Zur antimikrobiellen Wirkung des Luftaerosols in Abhängigkeit des Standortes

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Kristin Bertram
aus Koblenz

Bonn 1980

Zur antimikrobiellen Wirkung des Luftaerosols in Abhängigkeit des Standortes

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Kristin Bertram
aus Koblenz

Bonn 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Rüden

2. Gutachter: Priv. - Doz. Dr. B. Pelster

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Hygiene-Institut der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Direktor: Prof. Dr. E. Thofern

Druck: Richard Schwarzbold, 5305 Witterschlick bei Bonn

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	6
1.1.	Zusammensetzung der Luft, Aerosole	6
1.2.	Luftverunreinigungen	7
1.2.1.	Staub	7
1.2.2.	Schwermetalle	8
1.2.3.	Ammonium und Sulfate	9
1.2.4.	Kanzerogene Kohlenwasserstoffe	9
1.3.	Bedeutung der Luftinhaltsstoffe für den Menschen	9
1.3.1.	Allgemeines	9
1.3.2.	Staub	11
1.3.3.	Schwermetalle	11
1.3.4.	Kanzerogene Kohlenwasserstoffe	13
1.3.5.	Sulfat	13
1.4.	Mikroorganismen als Bioindikatoren für Luftinhaltsstoffe	13
2.	Material und Methodik	14
2.1.	Probennahme	14
2.1.1.	Filtermaterial	14
2.1.2.	Standort der Filter	14
2.1.3.	Zusammensetzung des abgeschiedenen Aerosols	15
2.2.	Extraktion der Luftinhaltsstoffe	16
2.2.1.	Gewinnung des wässrigen Extraktes	16
2.2.2.	Verfahren zur Auftrennung des wässrigen Extraktes	16
2.2.3.	Verfahren zur Inaktivierung der organischen Bestandteile	18
2.3.	Analyse des Extraktes	18
2.3.1.	Bestimmung des Trockenrückstandes	18
2.3.2.	Bestimmung von Schwermetallen	20
2.3.3.	Ammoniumsulfatbestimmung	20

		Seite
2.3.4.	Infrarotspektralphotometrie	20
2.3.4.1.	Allgemeines	20
2.3.4.2.	Herstellung eines KBr-Preßlings	21
2.4.	Weiterverarbeitung des Extraktes zur mikrobiologischen Prüfung	21
2.4.1.	Einengung des Ätherextraktes	22
2.4.2.	Herstellung von Zitratpuffer	22
2.5.	Mikrobiologische Methodik	22
2.5.1.	Verwendete Keime	22
2.5.2.	Herstellung einer Bakteriensuspension	22
2.5.3.	Herstellung von Kochsalzlösung	23
2.5.4.	Verdünnungsreihe	23
3.	Ergebnisse	25
3.1.	Chemische Auftrennung und antimikrobielle Wirksamkeit der Extrakte	25
3.2.	Mikrobiologische Prüfung der Ätherphasen und Wasserphasen mit unterschiedlichem Trockenrückstand	32
3.3.	Die antimikrobielle Wirksamkeit von Luftinhaltsstoffen verschiedener Standorte	39
3.3.1.	Wasser- und ätherlösliche Luftinhaltstoffe mit steigender Konzentration	39
3.3.2.	Standortabhängigkeit der antimikrobiell wirksamen Luftinhaltsstoffe	43
3.4.	Der Anteil der mikrobiziden Wirksamkeit von Ammonium und Sulfat an der Gesamtwirkung des Luftaerosols	50
3.5.	Bestimmung des Schwermetallgehalts	53
3.6.	Die antimikrobielle Aktivität von Luftinhaltsstoffen vor und nach UV-Bestrahlung der Extrakte	54

		Seite
3.7.	Isolierung einzelner organischer Luftinhaltsstoffe durch Infrarotspektroskopie	56
4.	Diskussion	58
4.1.	Open-Air-Factor	58
4.2.	Analyse der Luftinhaltsstoffe	58
4.2.1.	Anorganische Luftinhaltsstoffe	58
4.2.2.	Organische Luftinhaltsstoffe	59
4.3.	Bakterizide Wirkung in Abhängigkeit von der Konzentration der Luftinhaltsstoffe	59
4.4.	Geographische Unterschiede der antimikrobiellen Aktivität des Luftaerosols	60
4.5.	Medizinisch-lufthygienische Bedeutung	60
5.	Zusammenfassung	61
6.	Literatur	62

1. Einleitung

1.1. Zusammensetzung der Luft, Aerosole

In der natürlichen, nicht verunreinigten Atmosphäre finden sich neben den Hauptkomponenten Sauerstoff mit einem Anteil von 20,93 % und Stickstoff mit einem Anteil von 78,10 % als konstante Spurengase Argon, Krypton, Neon, Helium und Xenon, ferner Kohlendioxid, Kohlenmonoxid, Ozon, Wasserstoff, Methan, Stickoxide und Ammoniak (5, 29). Ferner zählen hierzu noch Formaldehyd, Schwefelwasserstoff, Schwefeldioxid und Halogene (23).

Die zeitliche und räumliche Konzentrationsverteilung der atmosphärischen Spurengase wird bestimmt durch ihre natürlichen Quellen, wie mikrobiologische und photochemische Prozesse, Emissionen von Gasen aus dem Erdinneren oder Bildung von Gasen an der Meeresoberfläche und durch ihre mittlere Verweilzeit in der Troposphäre (16).

Sofern die genannten Spurengase löslich sind, können sie in die flüssige Phase übergehen. Dabei entsteht zum Beispiel SO_4^{--}, SO_3^{--}, NO_3^- und NH_4^+, welche in der Luft überwiegen und zu den atmosphärischen Aerosolen gezählt werden.

Der Begriff Aerosol ist definiert als eine Suspension von festen oder flüssigen Teilchen in einem Gas. Diese Teilchen können als Ausgangssubstanzen für Kondensation und Sublimation von Wasserdampf dienen und bestehen aus organischen oder anorganischen Verbindungen. Als Leitkomponenten des atmosphärischen Aerosols werden SO_4^{--}, NH_4^+ und NO_3^- angesehen. Im ozeanischen Bereich kommen noch Na^+ und Cl^- in größeren Konzentrationen dazu. Als Quellen sind vulkanische Tätigkeit und Verbrennungsvorgänge aller Art zu nennen (23).

Die Größe der Aerosole reicht von einer Molekülgröße von 0,01 µm bis 100 µm. Aerosole im Bereich unter 10^{-3} µm bezeichnet man als Kleinionen, im Bereich von 10^{-3} µm bis 10^{-1} µm als Großionen oder Aitken-Kerne, von 10^{-1} µm bis 1 µm als große Kerne und 1 µm bis 10 µm und mehr als Riesenkerne oder Großaerosole. Das Maximum im Größenspektrum der Aerosole liegt bei 0,01 µm bis 0,1 µm (23, 25).

Kleine Teilchen, also von 0,01 µm Größe,kommen relativ selten

vor, da sie rasch koagulieren. Aufgrund dieses Vorganges kann man auf die Lebensdauer der Aerosolteilchen schließen. Je geringer die Zahl kleiner Teilchen ist, desto älter ist das Aerosol (25).

Neben diesen natürlichen Bestandteilen enthält die Luft zahlreiche anthropogen bedingte Substanzen, die Luftverunreinigungen.

1.2. Luftverunreinigungen

Unter Luftverunreinigungen versteht man solche Substanzen, die aufgrund anthropogener oder sonstiger Herkunft nicht natürlicherweise in der Luft vorkommen und die Zusammensetzung der natürlichen Atmosphäre verändern. Es werden feste, flüssige und gasförmige Luftbeimengungen unterschieden (3, 10, 19). Hauptquellen für die Luftverschmutzung sind der Hausbrand, die Industrie und der Kfz.-Verkehr (10, 29, 49).

Durch die Verbrennung von fossilen Energiequellen beim Hausbrand werden pro Emittent relativ geringe Mengen emittiert, die aber in dicht besiedelten Gebieten zu erheblichen Immissionen führen. Von besonderer Bedeutung sind hier die unvollkommenen Verbrennungsvorgänge (10, 23).

Die Industrie hat den größten Anteil an der Luftverunreinigung. Durch die Grundstoffindustrien und die Energieerzeugung werden die verschiedensten anorganischen und organischen Stoffe emittiert, wovon Staub, Schwefeldioxid, Kohlenmonoxid, Stickoxide und Halogenverbindungen die wichtigsten sind (49).

Im Bereich der stark wachsenden chemischen und petrochemischen Industrie sind jedoch noch viele Emissionsvorgänge und -komponenten unbekannt, besonders, was die organischen Luftinhaltsstoffe betrifft (10).

1.2.1. Staub

Unter Staub versteht man eine Dispersion fester Stoffe in Gasen, die einer technischen Behandlung zugänglich sind (28). Wichtigste Größe für die Untersuchungsmethodik und die Beurteilung der Auswirkung auf den Menschen ist der Durchmesser. Es wird unterschieden zwischen Grobstaub mit einer Teilchen-

größe von mehr als 100 µm, Feinstaub im Bereich von 100 bis 10 µm und Feinststaub mit einem Durchmesser unter 10 µm (5, 28).

Der Jahresmittelwert der Staubkonzentration liegt derzeit etwa bei 0,42 g/m^3/24 Stunden, in industriellen Ballunggebieten werden höhere Werte bis zu 1,3 g/m^3/24 Stunden gemessen (29). In den letzten Jahren ist der Anstieg der Staubemission nicht mehr so erheblich wie in den 60er Jahren, was dem Einsatz von mechanischen Entstaubungsanlagen, wie Absetzkammern, Grobstaubfiltern und Zyklonen zuzuschreiben ist (19, 49).

Im folgenden werden einige medizinisch bedeutsame Staubkomponenten beschrieben.

1.2.2. Schwermetalle

Hierzu zählen insbesondere Blei, Zink und Cadmium.

Die hauptsächliche Quelle für den Bleigehalt der Luft sind die Kraftfahrzeugabgase (9, 39, 48). In geringen Mengen entsteht es auch bei der Verarbeitung von Erzen jeder Art durch Verflüchtigung als Bleioxid, bei der Müllverbrennung, der Behandlung von anderen Metallen, bei der Staubemission von Bergwerkshalden oder bei der Gewinnung von Nichteisen- und Edelmetallen (48). Die Konzentrationsangaben beziehen sich meist auf anorganische Bleiverbindungen. Bei den Autoabgasen sind dies Oxide, Sulfate und Carbonate (39). Während der Bleigehalt der Atmosphäre über den Ozeanen 0,0001 bis 0,001 µg/m^3 beträgt, liegen die Werte in Wohngebieten von Großstädten im Monatsmittel bei 2 µg/m^3, im Tagesmittel bei 8 µg/m^3, wogegen in Spitzenverkehrszeiten kurzzeitlich auch Konzentrationen von 14 bis 38 µg/m^3 möglich sind (5, 9, 39).

Zur Belastung der Luft mit Zink kommt es bei Verzinkung, Schmelz-, Gieß- und Legierungsvorgängen, bei der Herstellung von Kunststofffertigerzeugnissen und durch Flugstaub bei Abgasreinigungen (48).

Cadmium kommt in der Luft nur in geringen Mengen vor und ist ein Nebenprodukt der Zinkgewinnung (48). Es entsteht außerdem bei der Verarbeitung von Blei- und Kupfererzen (37). Normale, nicht verunreinigte Luft enthält in der Regel weniger als 0,001 µg/m^3 Luft, in Großstädten dagegen treten Konzentrationen bis zu 0,05 µg/m^3

auf (37).

1.2.3. Ammonium und Sulfate

Ammonium und Sulfate gehören zu den Hauptkomponenten des kontinentalen Aerosols. Ihre Emission aus industriellen Anlagen ist relativ gering, jedoch finden sich in immissionsbelasteten Gebieten deutlich höhere Konzentrationen.

Der in den Brennstoffen enthaltene Schwefel wird bei Verbrennung in Luftüberschuß hauptsächlich zu SO_2 oxidiert und in dieser Form emittiert. Geringe Anteile des SO_2 werden weiter oxidiert zu SO_3, und zwar um so mehr, je niedriger die Temperatur und je höher der Sauerstoffüberschuß ist. SO_3 wiederum kann durch Wasseraufnahme besonders bei feuchter Witterung in Schwefelsäureaerosole übergehen (15, 47). Die Schwefelsäurebildung durch Oxidation in Lösung ist ein irreversibler Prozess. Die Konzentration steht in linearer Beziehung zum SO_2-Gehalt und erreicht in Abhängigkeit von der Metallsalzkonzentration der Luft einen Sättigungswert, der dann nicht mehr überschritten wird (15).

1.2.4. Kanzerogene Kohlenwasserstoffe

Ferner sind zahlreiche kanzerogene Kohlenwasserstoffe, insbesondere polycyclische Aromate bedeutsam. Die Hauptvertreter sind das Benzpyren und das Dibenzanthracen (34). Sie entstehen als Produkte unvollständiger Verbrennung durch industrielle und private Verbrennungsanlagen, sowie durch Autoabgase. So treten in Industrie- und Ballungsgebieten deutlich höhere Konzentrationen auf als in ländlichen Bezirken (5, 34, 38).

Außerdem ist der Kohlenwasserstoffgehalt im Winter höher als im Sommer infolge der Heizungsperiode, aber auch wegen der beschleunigten Zerstörung von Benzpyren durch Sonnenstrahlung (38).

1.3. Bedeutung der Luftinhaltstoffe für den Menschen

1.3.1. Allgemeines

Epidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, daß eine starke Anreicherung von Luftverunreinigungen, etwa bei austauscharmer

Inversionswetterlage zu einer deutlichen Erhöhung der Mortalität führt (1, 10, 36). Dabei reagieren vorgeschädigte Personen (z.B. mit Erkrankungen des Atemwegsystems und des Herz- und Kreislaufsystems) empfindlicher als die Normalbevölkerung (36). Daneben werden bei Kindern in Industriegebieten infolge langfristiger Belastung mit Verunreinigungen Veränderungen bestimmter biologischer Indikatoren, wie relativ verzögerte Knochenreifung sowie Schwellung von Tonsillen und Lymphknoten beobachtet, was nicht im Sinne einer Krankheitsmanifestation, sondern vielmehr einer Störung des biologischen Gleichgewichts zu beurteilen ist (45).

Aufgrund der Kombinationswirkung gas- und staubförmiger Substanzen ist ihre Einzelwirkung nur schwer quantifizierbar. Es wurde nachgewiesen, daß eine überproportionale Verstärkung der Einzeleffekte bei der kombinierten Einwirkung von Reizgasen mit Staub oder von Kohlenmonoxid mit halogenierten Kohlenwasserstoffen auftritt (13, 14, 42). So kommt es durch die halogenierten Kohlenwasserstoffe zu einer endogenen Kohlenmonoxidbildung und folglich zu einer Verstärkung der Kohlenmonoxidwirkung bei Exposition (13).

Die Aufnahme der Luftinhaltsstoffe sowie ihre Deposition, Retention und Resorption in den Atemwegen, insbesondere in den Alveolen, ist abhängig von ihrer Partikelgröße,ihrem Aggregatzustand und ihrer Wasser- und Lipidlöslichkeit (29, 43).

Bei der Aufnahme von Aerosolen in den Atemtrakt kommt es bei der Inhalation von Teilchen mit wasserlöslichen Bestandteilen in Abhängigkeit von ihrer Masse, dem Molekulargewicht und dem Dissoziationsgrad im Wasser zu einer starken Größenzunahme durch Wasserdampfkondensation. Dieser Vorgang kann bei löslichen organischen Stoffen mit hohem Molekulargewicht und bei unlöslichen Stoffen vernachlässigt werden. Unlösliche Aerosole werden entweder durch die Ziliarbewegung in den Rachenraum abgegeben oder über das lymphatische System in die Blutbahn aufgenommen (24).

Eine wichtige Rolle bei der Reaktion der Lunge auf inhalierte Schadstoffe spielen die Alveolarmakrophagen, die durch enzymatischen Abbau, besonders der polycyclischen Aromate wirksam

werden (43). Es kommt zu einer Verminderung der Infektresistenz, wobei wahrscheinlich außer der Schädigung der Alveolarmakrophagen auch Veränderungen des Mikromilieus der Alveolen und extrapulmonale Faktoren von Bedeutung sind, wie Schädigung des respiratorischen Epithels, des Interferonsystems, der T-Lymphocyten und des Mucocilarsystems, sowie die Beeinflussung der Antikörperbildung (2).

1.3.2. Staub

Von Bedeutung für den Menschen sind lediglich Partikel unter 10 µm, da Teilchen mit größerem Durchmesser nicht in die tieferen Atemwege bis in die Alveolen gelangen (8). Die schädliche Wirkung von Staub wird hauptsächlich bestimmt durch seine Löslichkeit in den Körpersäften. Lösliche Bestandteile sind, sofern es sich um nichttoxische Substanzen handelt, meist ungefährlich, da sie im Alveolarbereich relativ schnell resorbiert und über den Blutkreislauf im Organismus verteilt werden (24).

Unlösliche Stäube dagegen wirken immer als Fremdstoffe. Durch die schon erwähnte Schädigung der Alveolarmakrophagen, sowie durch die Einlagerung in die Alveolen und das Lungeninterstitium mit nachfolgenden lokalen Gewebsreaktionen sind sie die Hauptursache für akute bzw. bei Langzeitexposition für chronische Erkrankungen der Atemwege. Häufigste Erkrankungen sind chronische Bronchitis, Lungenemphysem, Bronchialasthma und mitunter Lungenkrebs(10).

1.3.3. Schwermetalle

Blei ist ein Enzymgift, das durch Bindung an die Sulfhydrilgruppen ihrer Eiweißkomponenten durch Verdrängung anderer Metallionen an die Zellfermente eingelagert wird (39, 44). Die Folgen zeigen sich insbesondere in Störungen der Blutbildung und des Nervensystems. Es entsteht eine Anämie mit basophil punktierten Erythrocyten bzw. -blasten im Blut bzw. Knochenmark. Gleichzeitig sinkt die Aktivität der Deltaaminolävulinsäure-Dehydratase in den Erythrocyten schon bei geringer Bleiaufnahme (17, 39). Eine neurotoxische Bleiwirkung zeigt sich klinisch in einer Lähmung der Streckermuskulatur, neurophysiologisch in einer Herabsetzung

der Nervenleitgeschwindigkeit, in Krämpfen von Darm und Blutgefäßen infolge einer Änderung des Muskeltonus der Gefäße, was auch zu dauernden Schäden des Kreislaufs und der Nieren führen kann (39). Die anorganischen Bleiverbindungen werden als feste Partikel inhaliert und dann von den Alveolarmakrophagen phagocytiert. Diese werden dabei lysiert und vakuolisiert, was zur Folge hat, daß andere Verunreinigungen, wie Benzpyren in geringerem Maße abgebaut werden und die Infektresistenz herabgesetzt wird (39, 44). Aufgrund epidemiologischer Untersuchungen sollte die Luftbleibelastung der Bevölkerung ca. 2 $\mu g/m^3$ Luft nicht überschreiten (26).

Zink wird überwiegend mit der Nahrung aufgenommen und auf den Erythrocyten angelagert. Bei akuten Vergiftungen mit sehr großen Zinkmengen treten neben Übelkeit und Erbrechen Magenschmerzen, Schwindel, Lethargie, mangelhafte Koordination der Muskelbewegungen und andere zentralnervöse Störungen auf. Bei den Erscheinungen durch chronische Vergiftung ist nicht geklärt, ob sie Folge der Zinkexposition oder der Begleitelemente Blei und Cadmium sind. Zu diesen gehören das Zinkrauchfieber, welches in seiner Symptomatik einer viralen Atemwegsinfektion ähnelt, die Zinkstaublunge und die Zinknebelvergiftung, die mit Lungenödem, einfacher oder nekrotisierender Entzündung oder akuter interstitieller Lungenfibrose und Gefäßthrombosen einhergehen kann. Bisher liegen noch keine ausreichenden Experimente vor, aufgrund derer Zink als karzinogen oder auch nur als kokarzinogen zu bezeichnen wäre. Jedoch wurden bei Tumorpatienten Veränderungen im Zinkmetabolismus beobachtet (18).

Cadmium führt bei exponierten Industriearbeitern zu Lungenschädigungen, insbesondere zu einem Ephysem und zur Schädigung der Nierentubuli mit tubulärer Proteinurie und eventuell auch erhöhter Ausscheidung von Aminosäuren, Glucose, Calzium und Phosphor. Eine zusätzliche Cadmiumumweltbelastung in der Zukunft ist aus toxikologischer Sicht von großer Bedeutung, da gegenwärtig schon kein allzugroßer Sicherheitsabstand zwischen dem zu tolerierenden Cadmiumspiegel beim Erwachsenen und dem kritischen Wert besteht (37).

1.3.4. Kanzerogene Kohlenwasserstoffe

Die polycyclischen Aromate, insbesondere 3,4-Benzpyren, wirken kanzerogen, wie die Steigerung der Mortalitätsrate an Lungenkrebs mit zunehmender Ortsgröße zeigt (34, 38). In Tierversuchen, bei denen mit Benzpyren Lungenkrebs erzeugt werden sollte, waren allerdings sehr große Mengen Benzpyren nötig, die vom Menschen niemals inhaliert werden. Jedoch wird durch eine längere Verweildauer die toxische Dosis herabgesetzt, ebenso durch eine Kombination mit anderen kanzerogenen Substanzen (38) oder mit Staubpartikeln (34). Versuche von SEEMAYER und Mitarbeitern (46) ergaben eine toxische Wirkung auf Mäusemakrophagen und auf stimulierte Lymphocyten des Menschen. In vitro wirkt 3,4-Benzpyren duch Photoaktivierung akut zelltoxisch (3).

1.3.5. Sulfat

Das H_2SO_4-Aerosol hat einen stechenden Geruch und ist in seiner Reizwirkung auf die Atmungsorgane 5 mal toxischer als entsprechende Konzentrationen von Schwefeldioxid. Seine Wirkung hängt nicht nur von der Konzentration, sondern auch von der Tröpfchengröße ab, d.h. je geringer der Tröpfchendurchmesser desto stärker ist der Effekt (15).

1.4. Mikroorganismen als Bioindikatoren für Luftinhaltsstoffe

Wie aus den vorstehenden Ausführungen hervorgeht, sind zwar mannigfache Wirkungen der Luftverunreinigungen auf Mensch, Tier und Pflanze nachgewiesen worden, dennoch eignen sich diese Untersuchungsobjekte nur relativ schlecht als Bioindikatoren, da erst nach langen Expositionszeiten Defekte feststellbar sind, deren Resultate darüberhinaus wegen der geringen Zahl oft nur schlecht interpretierbar sind. Zweckmäßiger scheinen für die Erfassung von Wirkungsmechanismen bzw. -beziehungen Einzeller, insbesondere Bakterien zu sein, da ihr Absterbe- oder Überlebens- und Wachstumsverhalten in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit und der Art der chemischen Substanzen beobachtet werden kann.

In bisherigen Untersuchungen (4, 6, 7, 11, 12, 20, 31, 32) konnte eine Wirksamkeit des Luftaerosols auf Mikroorganismen nur summarisch festgestellt werden. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es daher - nachdem sich die Mikroorganismen als geeignete Bioindikatoren erwiesen hatten -, festzustellen, ob die Luftinhaltsstoffe in ihrer antimikrobiellen Wirksamkeit geographischen Einflüssen unterliegen und welche Substanzgruppen in welchem Ausmaß für eine mikrobizide Wirkung infrage kommen.

Zwar galt das Interesse anderer Autoren (4, 6, 7, 11, 12, 20, 31, 32) auch dieser Fragestellung, doch beschränkten sich ihre Untersuchungen auf gasförmige Luftinhaltsstoffe, während in der vorliegenden Untersuchung die Wirkung fester und flüssiger Luftinhaltsstoffe, soweit sie auf Luftfiltern abgeschieden wurden, untersucht wurde.

2. Material und Methodik

2.1. Probennahme

2.1.1. Filtermaterial

Bei den verwendeten Filtern handelt es sich um Glasfaserfilter der Klassen "C" und "S" in Papier- und Wattenform. Die Klasse "C" zählt zu den Feinststaubfiltern, welche Partikel bis zu einer Korngröße unter 10 µm auffangen. Der Abscheidegrad liegt hier bei 95 %. Die Hochleistungsschwebstoffilter der Klasse "S" erfassen Partikel einer Korngröße unter 1 µm, und zwar mit einem Rückhaltegrad von 99,97 % (40, 41).

2.1.2. Standort der Filter

Um die antimikrobielle Wirksamkeit des standortabhängigen Luftaerosols in unterschiedlicher Zusammensetzung zu prüfen, wurden mit Luftinhaltsstoffen beaufschlagte Luftfilter aus Klimaanlagen verschiedener Standorte Deutschlands, der Niederlande und der Schweiz gesammelt (s. Tab. 1).

Tabelle 1: Standorte der Luftfilter

Deutschland	Niederlande	Schweiz
Berlin	Nördl. Niederlande	Basel
Bonn I-III	Östl. Niederlande I-II	Bern
Dortmund		St. Gallen
Düsseldorf		
Frechen		
Koblenz		
Krefeld		
Leverkusen		
Limburg		
München I-II		
Würzburg		

Bei den meisten in Tabelle 1 aufgeführten Standorten wurde die zweite Filterstufe, ein Feinststaubfilter der Klasse "C" als Untersuchungsobjekt gewählt, nach Vorabscheidung des Außenluftaerosols auf einem Feinstaubfilter der Klasse "B".

Bei den Filtern aus den Östl. Niederlanden I-II handelt es sich um die 2. und 3. Filterstufe (Feinstaub- (C) und Schwebstoffilter (S)). Ferner wurden aus Bonn Feinststaubfilter der 2. Filterstufe, sowie ein Raumluftfilter, das ebenso ein Feinststaubfilter war, verwendet. Es sei darauf hingewiesen, daß das Raumluftfilter nicht nur mit dem zweifach filtrierten Außenluftaerosol, sondern auch zusätzlich mit den raumbedingten, d.h. im Raum freigesetzten Luftinhaltsstoffen beaufschlagt wurde.

Die Luftfilter aus Dortmund, Leverkusen, München II und St. Gallen wurden als Umluftfilter zur Filtration der Raumluft verwendet, d.h. die Abluft wurde nach Filtration jeweils wieder als Zuluft neben aufbereiteter Außenluft dem Raum zugeführt.

2.1.3. Zusammensetzung des abgeschiedenen Aerosols

Auf den Filtern sind alle belebten und unbelebten Luftinhaltsstoffe abgeschieden in Abhängigkeit des jeweiligen Standortes.

Die Standzeiten der exponierten Luftfilter betrugen wenige Stunden bis mehrere Jahre, so daß unterschiedliche Staubmengen auf den Filtern abgeschieden waren. Die maximale Korngröße der Partikel betrug 10 µm, da durch eine Vorabscheidung mit Feinststaubfiltern der Klasse "B" die größeren Partikel überwiegend schon eliminiert waren.

2.2. Extraktion der Luftinhaltsstoffe

2.2.1. Gewinnung des wässrigen Extraktes

10 g Filtermaterial,beaufschlagt mit den aus der Atmosphäre abgeschiedenen Luftinhaltsstoffen, wurde mit 200 ml aqua dest. in einem Haushaltsmixgerät zerkleinert, bis ein homogener "Brei" entstand, und unter Vakuum in einer Nutsche filtriert. Zur Rückhaltung partikulärer Substanzen dienten ein Blauband -589- und ein 602 h-Filter. Dem zurückbleibenden "Kuchen" aus Filtermaterial wurde erneut 200 ml aqua dest. zugesetzt, der "Brei" in der Nutsche filtriert und anschließend mit 100 ml aqua dest. nachgefiltert. Der so erhaltene wässrige Extrakt wurde auf 500 ml aufgefüllt, - da geringe Mengen der zugesetzten 500 ml aqua dest. im Filterkuchen zurückblieben -, und anschließend unter Vakuum mittels eines Membranfilters mit einer Porengröße 0,45 µm filtriert, um feste ungelöste Teilchen, nämlich Ruß- und Staubpartikel, vom Extrakt abzutrennen.

2.2.2. Verfahren zur Auftrennung des wässrigen Extraktes

Im wässrigen Extrakt sind alle anorganischen und organischen Substanzen gelöst. Um die organische Komponente abtrennen zu können, wurde der wässrige Extrakt in jeweils 25-ml-Portionen auf pH = 1 angesäuert, darin ein Teelöffel NaCl gelöst und in einem Scheidetrichter 3 Minuten mit je 25 ml Äther oder n-Hexan als organischen Lösungsmitteln ausgeschüttelt. Das zugesetzte NaCl diente zur anschließenden besseren Trennung der beiden - anorganischen und organischen - Phasen. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich ist, wurden diese beiden Phasen als Wasserphase - vorwiegend anorganische Substanzen enthaltend - und als Ätherphase - vorwiegend organische Substanzen enthaltend - bezeich-

net. Die Ätherphase wurde mit wasserfreiem Na_2SO_4 versetzt, um eventuell mitgegangene Wassertropfen herauszulösen, und dann durch ein Papierfilter filtriert.

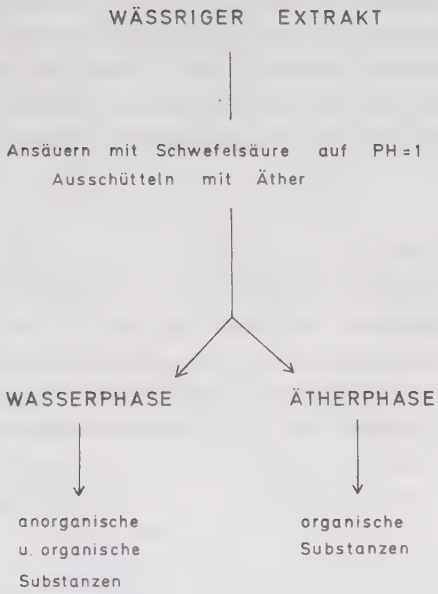

Abbildung 1: Auftrennung des wässrigen Extraktes

2.2.3. Verfahren zur Inaktivierung der organischen Bestandteile

Der wässrige Extrakt wurde auf 9 ml eingeengt und zunächst mit 1 ml H_2O_2 30% und dann mit 3-5 Tropfen 2n HCl versetzt. Diese Lösung wurde 1-2 Stunden mit UV-Licht zur Inaktivierung insbesondere der potentiell mikrobizid wirksamen organischen Bestandteile solange bestrahlt, bis die durch H_2O_2 verursachte Gelbfärbung verschwand. Danach wurde ein Tropfen des Extraktes mit Titanylsulfat vermischt. Sofern eine Gelbfärbung auftritt, ist davon auszugehen, daß Reste von H_2O_2 im Extrakt vorhanden sind, weshalb der Extrakt zur Inaktivierung von H_2O_2 erhitzt wurde. Das Zusetzen von Titanylsulfat und das Erhitzen wurde solange wiederholt, bis die Lösung farblos blieb. Durch das Verfahren der UV-Bestrahlung entstand ein Extrakt,dessen mögliche antimikrobielle Wirksamkeit auf dem Vorhandensein anorganischer Bestandteile beruht.

2.3. Analyse des Extraktes

2.3.1. Bestimmung des Trockenrückstandes

Zur Bestimmung des Trockenrückstandes der Wasserphase wurden Porzellan- und zur Bestimmung des Trockenrückstandes der Ätherphase Platintiegel verwendet. Alle Tiegel wurden 2 Stunden bei 105° C in den Trockenschrank und anschließend 30 Minuten zur Abkühlung in den Exsiccator gestellt, danach auf der Analysenwaage gewogen und mit 10 ml Wasser-, bzw. 25 ml Ätherextrakt gefüllt. Das Wasser wurde auf einem auf 100° C und der Äther unter dem Abzug auf einem 50° C erhitzten Wasserbad verdampft. Anschließend wurden die Tiegel wiederum 2 Stunden bei 105° C im Trockenschrank und 30 Minuten im Exsiccator aufbewahrt und auf der Analysenwaage gewogen. Das Gewicht setzte sich jetzt jeweils aus dem Leergewicht des Tiegels und dem Trockenverlust zusammen. Zieht man davon die oben ermittelten Leerwerte ab, erhält man den reinen Trockenverlust von 10 ml wässrigem, bzw. 25 ml Ätherextrakt.

In Tabelle 2 sind die Trockenrückstände (TR) der Wasser- bzw. Ätherextrakte der verschiedenen eingesetzten Luffilterextrakte aufgeführt.

Tabelle 2: Trockengewichte (TR) der Luftstaubextrakte

Standort	TR in mg/10 ml H_2O-Extrakt	TR in mg/25 ml Ätherextrakt
1) 2. Filterstufe (Feinststaubfilter) nach Vorabscheidung auf Feinstaubfiltern		
Basel	18,74	0,70
Berlin	33,04	2,51
Bern	18,95	1,62
Bonn I	17,51	1,22
Düsseldorf	13,26	0,76
Frechen	5,69	0,42
Koblenz	19,86	1,29
Krefeld	10,47	0,09
Limburg	8,07	0,83
München	11,73	0,90
Nördl. Niederlande	28,08	1,41
Würzburg	16,40	1,61
2) 2. und 3. Filterstufe (Feinststaub- und Schwebstoffilter) nach Vorabscheidung auf Feinstaubfiltern		
Östl. Niederlande I	23,51	1,43
Östl. Niederlande II	5,22	0,93
3) 2. Filterstufe (Feinststaubfilter) und Raumluftfilter (Feinstaubfilter)		
Bonn II	12,32	0,79
Bonn III	7,64	0,80
4) Raumluftfilter (Schwebstoffilter)		
Dortmund	9,19	0,41
St. Gallen	5,60	0,93
Leverkusen	3,57	0,24
München	7,37	2,02

2.3.2. Bestimmung von Schwermetallen

Der Gehalt des wässrigen Extraktes an Schwermetallen, und zwar an Mangan, Eisen, Zink, Cadmium, Kupfer und Blei, wurde mittels der Atomabsorptionsspektralphotometrie (AAS) bestimmt.

2.3.3. Ammoniumsulfatbestimmung

Sulfat wurde gravimetrisch als Bariumsulfat und Ammonium colorimetrisch mit Nesslers Reagenz bestimmt.

2.3.4. Infrarotspektralphotometrie

Zur Identifizierung von Einzelkomponenten der antibakteriell wirksamen organischen Inhaltsstoffe, wie organische Säuren und Phenole, wurden von einigen Filterextrakten Infrarot-(-IR-) Spektren hergestellt.

2.3.4.1. Allgemeines

Die Infrarotspektralphotometrie dient zur Analyse von Verbindungen in der Gasphase, als reine Flüssigkeit, in Lösung, sowie in fester Form. Dabei genügen schon wenige mg Substanz zur Aufnahme eines Spektrums. Gemessen werden im IR-Spektrum Molekülschwingungen, deren Energie meist im infraroten Bereich des elektromagnetischen Spektrums liegt. Ein komplexes Molekül besitzt viele Schwingungsmöglichkeiten, wobei man unterscheiden muß zwischen solchen, die das gesamte Molekül betreffen, und anderen,die in erster Linie auf Einzelbindungen oder funktionelle Gruppen beschränkt sind. Die Lage einer Absorptionsbande im Spektrum kann mit µm oder mit der reziproken Wellenlänge in cm^{-1} angegeben werden. Der normale Bereich liegt dann zwischen 4000 cm^{-1} und 667 cm^{-1} . Oberhalb 1550 cm^{-1} befinden sich die Absorptionsbanden, die funktionellen Gruppen zugeordnet werden können, und unterhalb 1500 cm^{-1} , im sogenannten Fingerprintbereich, die für das gesamte Molekül typischen Banden.

Das Spektrometer besteht aus einer Lichtquelle, die den ganzen infraroten Frequenzbereich emittieren kann. Die Strahlung wird in 2 Lichtbündel mit gleichstarker Intensität getrennt. Das eine

der Bündel tritt durch die Probe, das andere wird zum Vergleich, gleichermaßen als Leerwert, unverändert im Spektrum aufgezeichnet. Sind nun in der Probe Moleküle enthalten, deren Schwingungsfrequenz einer der Frequenzen im Strahlenbündel entspricht, so können die Moleküle Energie dieser Frequenz aus dem Licht absorbieren. Die Intensitätsschwächung gegenüber dem zweiten unveränderten Lichtbündel läßt sich im Spektrum ablesen. Die IR-Spektrophotometrie ist somit geeignet zu Identitätsprüfungen, quantitativen Analysen von Gemischen und Strukturbestimmungen. Bei unseren Untersuchungen wurde der Extrakt in fester Form als Kaliumbromidpreßling eingesetzt.

2.3.4.2. Herstellung eines KBr-Preßlings

Die Menge des Ätherextraktes, die jeweils 1 mg Trockenrückstandes entsprach, wurde unter dem Abzug in einer Achatschale verdampft. Der Rückstand, also 1 mg Trockenrückstand, wurde mit 100 mg getrocknetem, hochgereinigten Kaliumbromid fein verrieben, in eine Preßvorrichtung gleichmäßig eingefüllt und leicht zusammengepreßt. Durch Anlegen einer Vakuumpumpe wurde 5 Minuten lang Luft und Wasser entzogen und anschließend die Substanz mit einem Druck von 7500 bar langsam zu einem Zylinder zusammengepreßt. Der so erhaltene 13 mm große Preßling wurde in den Strahlengang gegeben.

2.4. Weiterverarbeitung des Extraktes zur mikrobiologischen Prüfung

In allen Versuchen wurden identische Mengen des Trockengewichtes eingesetzt. Deshalb wurden unterschiedliche Extraktvolumina immer auf das gleiche Volumen, nämlich auf 4,5 ml eingeengt, was an folgendem Beispiel erläutert werden soll: Wenn in 10 ml Wasserextrakt des Filters (Standort Berlin) 33,04 mg Trockenrückstand enthalten sind, in 10 ml des Filters (Standort Dortmund) nur 9,19 mg, so wurden 108,9 ml des Dortmunder, bzw. 30,27 ml des Berliner Extraktes jeweils auf 4,5 ml eingeengt, um in beiden Fällen aus Vergleichsgründen 100 mg Trockensubstanz einzusetzen.

2.4.1. Einengung des Ätherextraktes

Die entsprechend dem Trockenrückstand eingesetzten Mengen des Ätherextraktes wurden mit 4,5 ml aqua dest. unterschichtet und bei einer Temperatur von 40-50° C unter Stickstoff im Rotationsrotavapor eingeengt,bis nur noch 4,5 ml H_2O übrigblieben und der gesamte Äther verdampft war, so daß eine wässrige Lösung zur Verfügung stand, in der äther- und wasserlösliche Bestandteile vorliegen. Auf diese Weise konnte eine Verfälschung der Ergebnisse durch die bakterizide Wirkung von Äther ausgeschaltet werden.

2.4.2. Herstellung von Zitratpuffer

Alle auf 4,5 ml eingeengten Äther- und wässrigen Extrakte wurden zur Stabilisierung des pH-Wertes mit 0,5 ml Zitratpuffer versetzt, bevor sie in einem Versuch eingesetzt wurden. Dazu wurden 21 g Zitronensäure und 8 g NaOH abgewogen und mit aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt. Zur Einstellung des gewünschten pH-Wertes wurde tropfenweise 1 n HCl zugegeben, die aus 8 ml konzentrierter HCl in 100 ml aqua dest. bestand.

2.5. Mikrobiologische Methodik

2.5.1. Verwendete Keime

Zur Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit des Luftaerosols wurden Serratia marcescens, Staph. epidermidis und Staph. aureus verwendet.

2.5.2. Herstellung einer Bakteriensuspension

Wie aus Abbildung 2 ersichtlich ist, wurden 6 Kolonien einer Oberflächenkultur mit einer ausgeglühten Öse in ca. 6 ml Peptonbouillon gegeben. Nach Inkubation bei 37° C wurde für 20 Min. bei 10 000 U/min. zentrifugiert. Das Sediment wurde mit 5 ml steriler, auf pH = 7 gepufferter physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit einer ausgeglühten Öse aufgerührt. Daraufhin wurde bei derselben Umdrehungszahl noch einmal 20 Min. zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Sediment

diesmal mit 5 ml sterilem aqua dest. aufgeschwemmt und wieder mit einer ausgeglühten Nadel aufgerührt. Diese Suspension wurde in ein steriles Reagenzglas gefüllt und im Suspensionsversuch zur Prüfung der antimikrobiellen Aktivität der Luftinhaltsstoff-extrakte eingesetzt. Die Keimzahl wurde auf etwa 5 x 10^6/0,5 ml eingestellt.

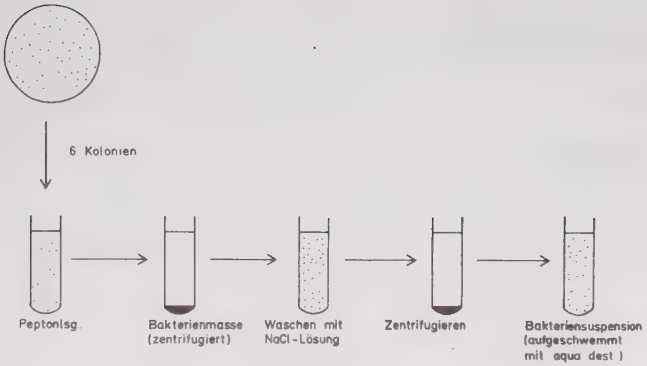

Abb. 2: Herstellung einer Bakteriensuspension

2.5.3. Herstellung von Kochsalzlösung

Um eine gepufferte Kochsalzlösung mit einem pH-Wert von 7 zu erhalten, wurden 8,5 g NaCl, 14,688 g Na_2HPO_4 x 12 H_2O und 3,5 g KH_2PO_4 mit aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt.

2.5.4. Verdünnungsreihe

Je 0,5 ml der Bakteriensuspension wurden in 4,5 ml Extrakt gegeben, dem zur pH-Stabilisierung weitere 0,5 ml Zitratpuffer zugesetzt werden. Um die bakterizide Wirkung des Luftaerosols

nachzuweisen, wurden nach O, 1/2, 3, 6, 9(bzw. 24) und 24 (bzw. 96) Stunden Einwirkzeit des Extraktes auf die Bakterien aliquote Mengen entnommen, auf Agarplatten überimpft und mit einem sterilem Spatel ausgestrichen. Außerdem wurde, wie Abbildung 3 zeigt, jede der Proben in verschiedenen Verdünnungen auf Agarplatten aufgetragen, welche sich in ihrer Keimzahl jeweils um etwa eine Zehnerpotenz voneinander unterschieden.

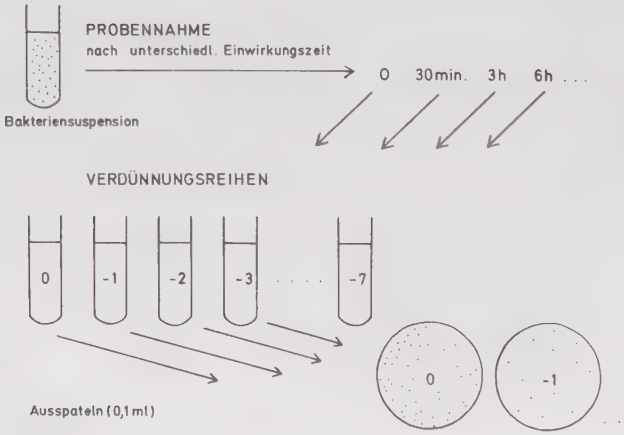

Abb. 3: Verdünnungsreihe

Die beimpften Agarplatten wurden 2 Tage im Brutschrank aufbewahrt, und zwar Serr. marcescens bei 37° C und die Staphylokokken bei 30° C, und anschließend ausgezählt. Die Ergebnisse wurden in Absterbekurven graphisch dargestellt.

3. Ergebnisse

3.1. Chemische Auftrennung und antimikrobielle Wirksamkeit der Extrakte

Zur Beurteilung verschiedener Verfahren zur Auftrennung der Extrakte hinsichtlich ihrer antimikrobiellen Wirksamkeit wurde von beaufschlagten Luftstaubfiltern aus Bonn, Koblenz, Düsseldorf und Berlin je 500 ml wässriger Extrakt, hier Rohextrakt genannt, hergestellt. Der gesamte Extrakt wurde zur Abtrennung von Schaumstoffen mit n-Hexan im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Nach Trennung der Phasen wurde, wie aus Abbildung 4 ersichtlich, die erhaltene Wasserphase durch ein Papierfilter filtriert und dann zum einen zusätzlich membranfiltriert und zum anderen auf pH 1 angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Aus jedem Ausgangsextrakt wurden 5 weitere Extrakte abgetrennt, und zwar neben dem Roh- oder Ausgangsextrakt (Nr.1) eine Hexanphase (Nr.2) eine unfiltrierte (Nr.3) und eine menbranfiltrierte (Nr.4) Wasserphase, eine Ätherphase (Nr.5) und eine mit Äther ausgeschüttelte Wasserphase (Nr.6).

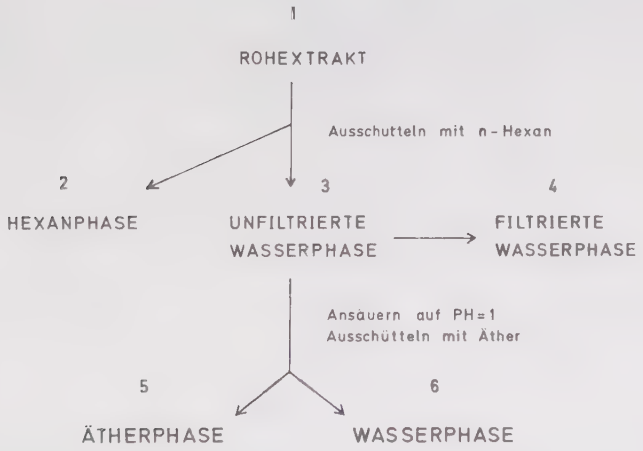

Abb. 4: Auftrennung der Extrakte

Von jeder dieser 6 Extraktphasen wurden die einem Trockenrückstand (= TR) von 185 mg entsprechenden Volumina auf 4,5 ml eingeengt und auf den pH-Wert des jeweiligen Rohextraktes eingestellt.

Wie aus den Abbildungen 5-7 hervorgeht, ist der gegen Serr. marcescens eingesetzte unbehandelte wässrige Extrakt, der sogenannte Rohextrakt, von Bonn, Berlin und Koblenz bei 185 mg TR stark bakterizid wirksam. Nach Ausschütteln mit n-Hexan vermindert sich diese Wirkung in den unfiltrierten Wasserphasen (Nr.3) nicht, dementsprechend weisen die Hexanphasen (Nr.2) keinerlei Effekt auf.

Durch eine Membranfiltration (Nr.4) der Wasserphase nimmt die Bakterizidie für die Extrakte aus Koblenz und Bonn geringfügig ab, hingegen bleibt sie bei Verwendung des Berliner Extraktes weiterhin unverändert.

Nach Ansäuern der unfiltrierten Wasserphase auf pH = 1 und Ausschütteln mit Äther vermindert sich die Wirkung der erhaltenen Wasserphase (Nr.6) nicht. Einige Anteile gehen in die Ätherphase über (Nr.5), welche aber im Vergleich mit der wässrigen Phase eine relativ geringe Wirkung hat. Bei dem Bonner Extrakt konnte die abgetrennte Wasserphase nicht untersucht werden, da bei der Rückeinstellung des pH-Wertes auf den Ursprungswert Substanzen ausfielen. Die Ursache hierfür blieb ungeklärt.

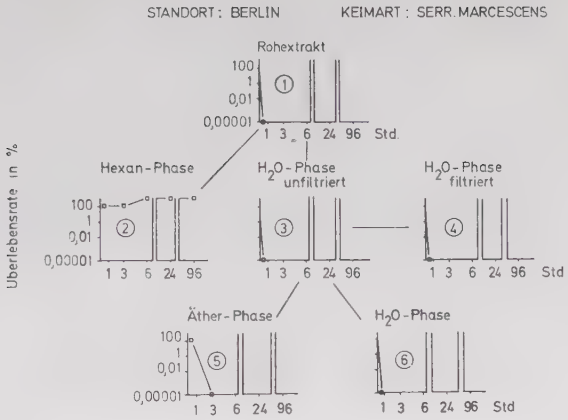

Abb. 5: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Berlin mit 185 mg wässrigem Trockenrückstand (= TR)

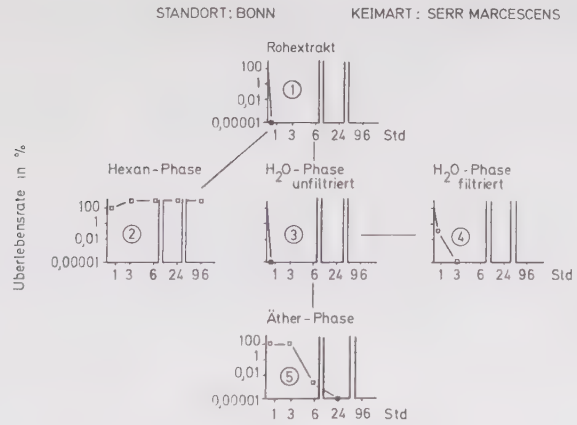

Abb. 6: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Bonn mit 185 mg wässrigem TR

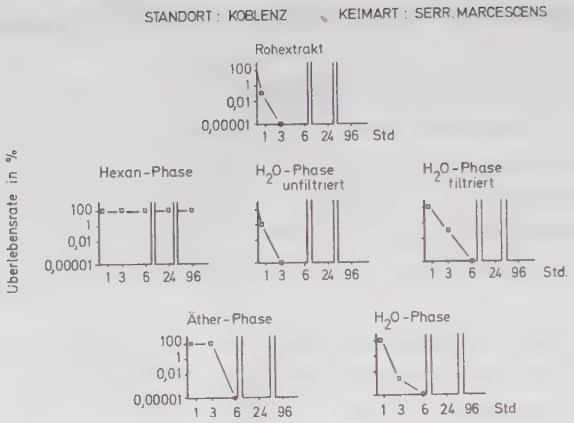

Abb. 7: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Koblenz mit 185 wässrigem TR

Der Extrakt aus Düsseldorf fällt aus dem Rahmen (Abb. 8). Der Rohextrakt zeigt eine relativ schwache bakterizide Wirkung. Die Hexanphase ist auch hier wie bei den obigen Extrakten wirkungslos. Bei der mit Hexan ausgeschüttelten, unfiltrierten Wasserphase nimmt die Wirkung geringfügig zu. Dagegen nimmt die antibakterielle Aktivität nach Membranfiltration in erheblichem Maße ab.

Nach Ausschütteln der unfiltrierten Wasserphase mit Äther weisen Ätherphase (Nr.5) und Wasserphase (Nr.6) etwa dieselbe Wirkung auf, d.h. in beide Phasen gehen etwa gleich viele Anteile über.

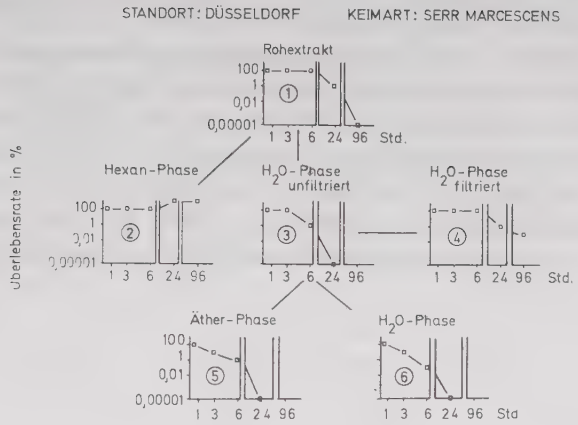

Abb. 8: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Düsseldorf mit 185 mg wässrigem Extrakt

Bei der Untersuchung derselben Extraktmengen gegen eine andere Spezies, Staph. epidermidis, ergaben sich ähnliche Ergebnisse, wie bei den Untersuchungen mit Serr. marcescens (Tab. 3).

Die Rohextrakte (Nr.1) weisen eine fast identische antimikrobielle Aktivität auf. Die Hexanphasen erweisen sich, wenn auch überwiegend erst nach langen Einwirkungszeiten, besonders bei den Extrakten aus Düsseldorf und Berlin, als antimikrobiell schwach wirksam. Die membranabfiltierten Wasserphasen (Nr.4) entsprechen in ihrer Wirkung den unfiltrierten Wasserphasen (Nr.3), während bei Verwendung von Serr. marcescens die Bakterizidie nach der Filtration kaum zurückging.Die Ätherphasen (Nr.5) zeigten hier einen etwas stärkeren Effekt. Bei den mit Äther ausgeschüttelten Wasserphasen (Nr.6) fielen bei der Rückeinstellung des pH-Wertes auf den Ursprungswert in den meisten Fällen wieder Substanzen aus, so daß diese Extrakte für die Prüfung ungeeignet waren. Nur bei dem Koblenzer Extrakt konnte

die Wasserphase (Nr.6) geprüft werden. Sie unterschied sich in ihrer bakteriziden Wirksamkeit nicht von der des Rohextraktes.

Insgesamt zeigte sich, daß keine oder nur unbedeutende Mengen bakterizider Substanzen aus dem Rohextrakt mittels Hexan in die Hexanphase überführt werden, während der antimikrobiell wirksame Anteil der ätherlöslichen Bestandteile nicht ganz unerheblich ist. Im Vergleich zur Wasserphase jedoch ist die Wirkung der Ätherphasen relativ gering.Eine Filtration der Wasserphase führt nur zu einer minimalen Verminderung des antimikrobiellen Effektes.

Tabelle 3: Überlebensraten von Staph. epidermidis in wässrigen Luftstaubextrakten mit einem identischen Trockenrückstand von 185 mg (Auftrennverfahren siehe Abb.4) (Angaben der Keimzahl in KBE/5 ml)

Extrakte	Versuchszeiten in Std.	Bonn I	Koblenz	Düsseldorf	Berlin
Rohextrakt	0	2×10^7	2×10^7	1×10^7	1×10^7
(Nr.1)	1/2	1×10^4	1×10^3	0	0
	3	0	0	0	0
Hexanphase	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7	2×10^7
(Nr.2)	1/2	2×10^7	2×10^6	2×10^6	2×10^7
	3	1×10^6	2×10^6	0	2×10^6
	6	2×10^4	2×10^5	0	1×10^5
	24	0	0	0	0
H_2O-Phase	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7	2×10^7
unfiltriert	1/2	3×10^4	1×10^4	0	0
(Nr.3)	3	0	0	0	0
H_2O-Phase	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7	2×10^7
filtriert	1/2	1×10^5	1×10^5	0	0
(Nr.4)	3	2×10^4	0	0	0
	6	0	0	0	0
Äther-Phase	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7	1×10^7
(Nr.5)	1/2	2×10^5	2×10^5	1×10^5	2×10^2
	3	0	0	0	0
H_2O-Phase	0		2×10^7		
(Nr.6)	1/2		2×10^5		
	3		0		

3.2. Mikrobiologische Prüfung der Ätherphasen und Wasserphasen mit unterschiedlichem Trockenrückstand

Aus Luftfiltern unterschiedlicher Standorte wurde wiederum das abgeschiedene Außenluftaerosol wässrig extrahiert (vgl. 2.2.1.). Nach Bestimmung des Trockenrückstandes wurde ein 200 mg Trockenrückstand entsprechender Extrakt eingesetzt (Nr.1 in Abbildung 9). Dasselbe Volumen des wässrigen Extraktes wurde auch zur Herstellung des Ätherextraktes verwendet (Nr.2), d.h. die derartig gewonnenen Ätherextrakte verschiedener Standorte enthielten nicht identische Mengen an ätherlöslichen Substanzen (s. auch Tabelle 4). Deshalb wurde aus Vergleichsgründen in einem weiteren Verfahren Ätherextrakte mit identischen Mengen an ätherlöslichen Substanzen, nämlich 5 mg, hergestellt, und zwar wiederum aus dem 5 mg ätherlösliche Substanzen enthaltenden wässrigen Extrakt. In Tabelle 4 sind die entsprechenden Daten zusammengestellt.

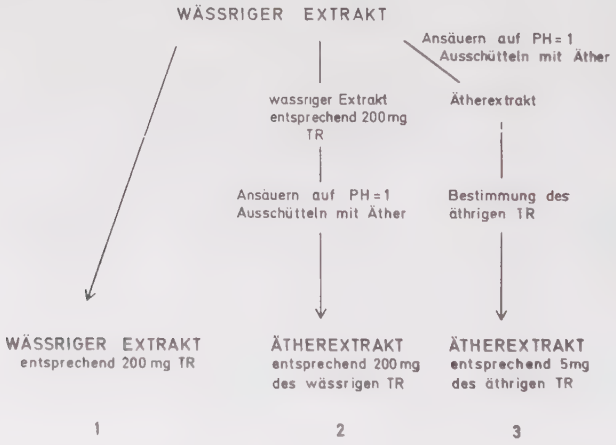

Abb. 9: Wasserextrakt und Ätherextrakte mit unterschiedlichem Gehalt an Trockensubstanz

Tabelle 4: Trockenrückstände von Äther- und Wasserextrakten verschiedener Standorte, sowie die zur Herstellung der Äther- und Wasserextrakte mit identischem Gehalt an Trockensubstanz benötigten Volumina

Standort	TR der ätherlöslichen Substanzen (25 ml)	wässriger TR (10 ml)	200 mg wässriger TR in	TR im Ätherextrakt	ml wässriger Extrakt zur Herstellung von Ätherextrakt mit 5 mg TR
Düsseldorf Nördl.	0,76 mg	13,26 mg	150,8 ml	4,58 mg	164,63 ml
Niederlande	1,41 mg	28,08 mg	71,2 ml	4,02 mg	88,56 ml
Würzburg	1,61 mg	16,40 mg	122,0 ml	7,86 mg	77,61 ml
Berlin	2,51 mg	33,04 mg	60,5 ml	6,07 mg	49,84 ml
Bern	1,62 mg	18,95 mg	105,5 ml	6,84 mg	77,12 ml
Bonn	1,22 mg	17,51 mg	113,7 ml	5,55 mg	102,43 ml

Alle Wasser- und Ätherphasen wurden auf identische Volumina - 4,5 ml - eingeengt, membranfiltriert und diesmal nicht auf den pH-Wert des zugehörigen Rohextraktes, sondern einheitlich auf pH = 3,7 eingestellt, was in allen weiteren Versuchen beibehalten wurde. Die Wahl fiel auf einen pH-Wert von 3,7, weil dieser dem arithmetischen Mittel der pH-Werte der Rohextrakte entsprach. Ferner konnten damit pH-Wert bedingte Unterschiede in der bakteriziden Wirkung ausgeschlossen werden.

Wiederum wurde zur pH-Stabilisierung 0,5 ml Zitratpuffer (2.4.3.) mit einem pH-Wert von 3,7 zugefügt. Als Testkeim wurden Serr. marcescens und Staph. epidermidis eingesetzt.

Wie aus Tabelle 5 hervorgeht, ist die bakterizide Wirksamkeit der Ätherphasen allgemein geringer als die der zugehörigen wässrigen Extrakte. Ferner sind Standortunterschiede erkennbar. Der wässrige Extrakt der nördl. Niederlande hat den stärksten keimtötenden Effekt (Abb.10, Tab.5). Der zugehörige Ätherextrakt, 4,02 mg ätherlösliche Substanzen enthaltend, zeigt keine Wirkung, im Gegensatz zu den Extrakten anderer Standorte.

Tabelle 5: Überlebensrate von Serr. marcescens in Wasser- und Ätherextrakten von Feinststaubfiltern verschiedener Standorte (s. Abb.9 Nr.1, 2 u. 3)

Standort	Expositionszeiten in Stunden	Wasserextrakt (200 mg wasserlösliche Substanzen)	Ätherextrakt (zw.4,02 u. 7,86 mg ätherlösliche Substanzen)	Ätherextrakt (5 mg ätherlösliche Substanzen)
Berlin	0	2×10^7	1×10^7	2×10^7
	1/2	1×10^3	2×10^7	4×10^7
	3	0	2×10^7	4×10^7
	6	0	5×10^6	3×10^6
	24	0	1×10^6	3×10^6
	96	0	3×10^5	2×10^6
Bern	0	1×10^7	1×10^7	1×10^7
	1/2	1×10^6	1×10^7	1×10^7
	3	0	1×10^7	1×10^7
	6	0	1×10^5	1×10^5
	24	0	0	0
Düsseldorf	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7
	1/2	2×10^3	2×10^7	2×10^7
	3	0	2×10^7	2×10^7
	6	0	2×10^5	3×10^5
	24	0	0	0
Nördl. Niederlande	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7
	1/2	0	2×10^7	2×10^7
	3	0	2×10^7	2×10^7
	6	0	2×10^7	2×10^6
	24	0	2×10^7	2×10^7
	96	0	2×10^7	2×10^7

Fortsetzung der Tabelle 5

Standort	Expositionszeiten in Stunden	Wasserextrakt (200 mg wasserlösliche Substanzen)	Ätherextrakt (zw.4,02 u. 7,86 mg ätherlösliche Substanzen)	Ätherextrakt (5 mg ätherlösliche Substanzen)
Bonn I	0	2×10^7	2×10^7	1×10^7
	1/2	1×10^6	1×10^7	2×10^7
	3	0	1×10^7	1×10^7
	6	0	1×10^6	2×10^6
	24	0	0	0
Würzburg	0	2×10^7	2×10^7	1×10^7
	1/2	2×10^6	2×10^7	2×10^7
	3	0	2×10^7	3×10^7
	6	0	2×10^6	1×10^6
	24	0	0	0

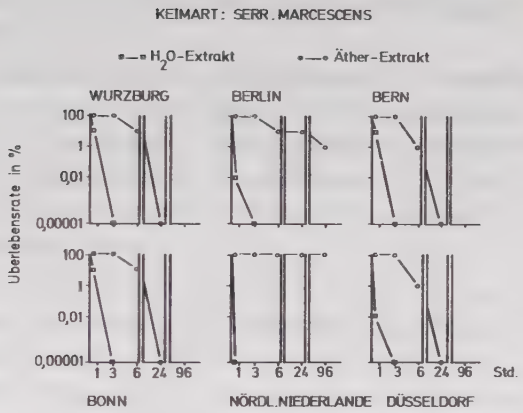

Abb. 10: Überlebensrate von Serr. marcescens in Wasser- und Ätherextrakten von Feinststaubfiltern verschiedener Standorte (s. Abb.9, Nr. 1 u. Nr.2)

Bei der Prüfung der Wirkung gegen Staph. epidermidis (Tabelle 6) zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen der wasserlöslichen und der ätherlöslichen Fraktion. In nahezu allen Fällen war die Absterberate für Staph. epidermidis höher als für Serr. marcescens, was auf eine größere Empfindlichkeit dieser Keimart (unterschiedlicher Zellwandaufbau) hinweist.

Tabelle 6: Überlebensrate von Staph. epidermidis in Wasser- und Ätherextrakten von Feinststaubfiltern verschiedener Standorte (s. Abb.9, Nr. 1, 2 u. 3)

Standort	Expositionszeiten in Stunden	Wasserextrakt (200 mg wasserlösliche Substanzen)	Ätherextrakt (zw.4,02 u. 7,86 mg ätherlösliche Substanzen)	Ätherextrakt 5 mg ätherlösliche Substanzen)
Berlin	0	1×10^7	2×10^7	3×10^7
	1/2	2×10^5	1×10^5	1×10^5
	3	0	0	0
Bern	0	1×10^7	2×10^7	2×10^7
	1/2	2×10^4	1×10^5	1×10^6
	3	0	0	0
Düsseldorf	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7
	1/2	2×10^3	2×10^3	4×10^4
	3	0	0	0
Nördl.	0	2×10^7	2×10^7	2×10^7
Niederlande	1/2	1×10^4	1×10^6	1×10^7
	3	0	1×10^1	0
	6	0	0	0
Bonn I	0	1×10^7	3×10^7	1×10^7
	1/2	0	1×10^3	2×10^3
	3	0	0	0
Würzburg	0	1×10^6	1×10^6	1×10^6
	1/2	1×10^2	1×10^5	2×10^4
	3	0	0	0

3.3. Die antimikrobielle Wirksamkeit von Luftinhaltsstoffen verschiedener Standorte

3.3.1. Wasser- und ätherlösliche Luftinhaltsstoffe mit steigender Konzentration

Um die Extraktmengen zu finden, bei denen das Absterbeverhalten von Serr. marcescens und Staph. epidermidis oder Staph. aureus einen charakteristischen, über mehrere Stufen zu beobachtenden Verlauf zeigen, wurden Extrakte derselben Standorte, aber mit unterschiedlichem Gehalt an Trockensubstanz in einer Verdünnungsreihe eingesetzt.

8, 40, 200 und 1000 mg wasserlösliche und 0,5, 1, 5 und 25 mg ätherlösliche Trockensubstanz in Extrakten aus Berlin und den nördl. Niederlanden wurden nach Lösung in 4,5 ml NaCl bei pH = 3,7 unter Zusatz von Zitratpuffer auf ihre antimikrobielle Wirkung gegen Serr. marcescens und Staph. aureus untersucht.

Wie die Abbildungen 11 und 12 zeigen, sterben mit steigender Konzentration der Luftinhaltsstoffe die Testkeime schneller ab. Dabei reagieren beide Keimarten unterschiedlich stark. Während beispielsweise 8 mg des wässrigen und 0,2 mg des Äthertrockenrückstandes auf Serr. marcescens keinerlei Wirkung ausüben, wird Staph. aureus bei gleichen Substanzmengen innerhalb von 96 Stunden abgetötet. Um dieselbe Wirkung bei Serr. marcescens zu erzielen, ist eine etwa fünffach größere Menge nötig. Bei höheren Konzentrationen, wie 1000 oder 200 mg wasserlöslicher und 25 mg ätherlöslicher Substanz, sind die Absterbekurven fast identisch.

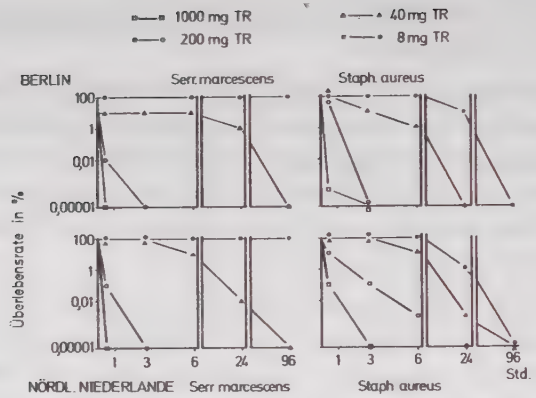

Abb. 11: Überlebensraten von Serr. marcescens und Staph. aureus in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Berlin und den nördl. Niederlanden bei variierendem wässrigem TR

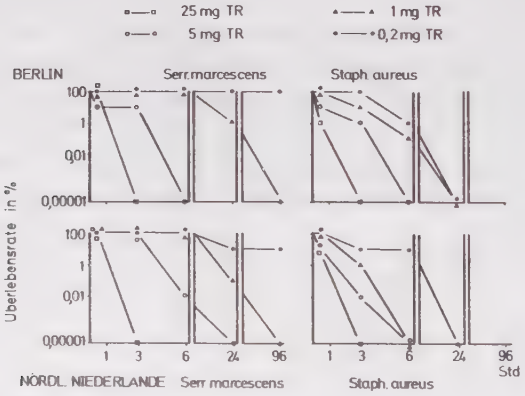

Abb. 12: Überlebensraten von Serr. marcescens und Staph. aureus in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Berlin und den nördl. Niederlanden bei variierendem TR des Ätherextraktes

Die Empfindlichkeit der Testorganismen nahm bei jeweils fünffacher Steigerung der Konzentration nicht immer in gleichem Maße zu. Dies spricht dafür, daß die Luftinhaltsstoffe neben einer additiven auch eine multiplikative Wirkung besitzen.

Sofern man die beiden Standorte vergleicht, fällt auf, daß die Absterbekurven gleicher Konzentrationen fast identisch sind.

Nachdem sich herausgestellt hatte, daß mit den ersten Konzentrationsversuchen die Substanzmengen zu hoch bzw. zu niedrig gewählt waren, um ein kontinuierliches stufenweises Absterbeverhalten der Keimarten sichtbar zu machen, wurden in einer weiteren Versuchsreihe andere Substanzmengen eingesetzt, und zwar 100 und 200 mg wasserlösliche bzw. 0,5, 1, 5 und 10 mg äther- und wasserlösliche Luftinhaltsstoffe. Als Testkeime wurden Serr. marcescens und Staph. epidermidis verwendet.

Wie Tabelle 7 zeigt, ließ sich bei 100 mg Trockenrückstand des Wasser- und 5 mg des Ätherextraktes ein Keimzahlrückgang über mehrere Stufen bei den entsprechenden Expositionszeiten beobachten, weshalb diese Mengen in den folgenden Versuchen eingesetzt wurden.

Tabelle 7: Absterbeverhalten von Serr. marcescens und Staph. epidermidis in Extrakten von Feinststaubfiltern aus Berlin und den nördl. Niederlanden bei variierendem TR des Wasser- bzw. Ätherextraktes (n.d. = nicht durchgeführt)

	Expositionszeiten in Stunden	nördl. Niederlande		Berlin	
		Serr. marcescens	Staph. epidermidis	Serr. marcescens	Staph. epidermidis
H_2O-Extrakt					
TR: 200 mg	0	1×10^7		3×10^7	
	1/2	3×10^4		0	
	3	0	n.d.	0	n.d.
100 mg	0	1×10^7		2×10^7	
	1/2	1×10^7		3×10^7	
	3	1×10^2	n.d.	1×10^6	n.d.
	6	0		1×10^4	
	24	0		0	
Ätherextrakt					
TR: 10 mg	0	2×10^7		1×10^7	
	1/2	2×10^7		2×10^7	
	3	4×10^5	n.d.	2×10^5	n.d.
	6	2×10^3		1×10^1	
	24	0		0	
5 mg	0	4×10^7		1×10^7	
	1/2	4×10^7		1×10^7	
	3	2×10^6		2×10^6	
	6	1×10^4	n.d.	1×10^3	n.d.
	24	0		0	
1 mg	0		1×10^7		1×10^7
	1/2	n.d.	1×10^7	n.d.	1×10^6
	3		0		0
0,5 mg	0		3×10^7		1×10^7
	1/2	n.d.	2×10^5	n.d.	1×10^6
	3		1×10^1		0
	6		0		0

3.3.2. Standortabhängigkeit der antimikrobiell wirksamen Luftinhaltsstoffe

Nach der unter 2.3.1. beschriebenen Methode wurden die Trockenrückstände der Wasser- und der Ätherextrakte von 20 verschiedenen Standorten bestimmt, welche in Tabelle 8 aufgeführt sind. Wie schon unter 2.4. dargestellt, wurden die Extrakte, 100 mg wasserlösliche bzw. 5 mg ätherlösliche Substanzen enthaltend, auf ein einheitliches Volumen von 4,5 ml eingeengt, membranfiltriert, auf einen pH-Wert von 3,7 eingestellt und zur Stabilisierung 0,5 ml Zitratpuffer zugesetzt. Als Testkeime wurden Staph. aureus und Serr. marcescens verwendet.

Tabelle 8 (nächste Seite): Trockenrückstände der Wasser- und Ätherextrakte verschiedener Standorte

Standort	TR im mg/10 ml H_2O-Extrakt	ml Extrakt für 100mg TR	TR im mg/25 ml Ätherextrakt	ml Extrakt für 5mg TR	Standzeit in Monaten	Luftdurchsatz in m^3
Basel	18,74	53,36	0,70	178,5	18	7.000
Berlin	33,04	30,27	2,51	50,0	23	5.100
Bern	18,95	52,8	1,62	77,12	15	5.700
Bonn I	17,51	56,8	1,22	102,43	6	5.000
Bonn II	12,32	81,2	0,79	158,23	17	9.900
Bonn III	7,64	130,9	0,80	156,25	17	16.000
Dortmund	9,19	108,9	0,41	304,88	50	78.500
Düsseldorf	13,26	75,4	0,76	164,47	18	9.800
Frechen	5,69	175,7	0,42	297,62	15	56.900
St. Gallen	5,60	178,7	0,93	134,4	49	126.000
Koblenz	19,86	50,5	1,29	96,90	12	4.400
Krefeld	10,47	95,5	0,90	137,3	7	4.800
Leverkusen	3,57	280,5	0,24	520,83	60	24.200
Limburg	8,07	193,9	0,83	125,83	18	25,200
München	11,73	85,3	0,90	138,89	29	35.700
München (Umluft)	7,37	135,8	2,02	61,88	84	16,500
nördl. Niederlande	28,08	35,6	1,41	90,0	60	15.400
östl. Niederlande I	23,51	42,4	1,43	87,41	42	12.900
Östl. Niederlande II	5,22	191,75	0,93	134,41	42	58.000
Würzburg	16,40	61,0	1,61	77,6	25	22.000

Ferner muß berücksichtigt werden, daß die Standzeit der exponierten Luftfilter 6 bis 84 Monate beträgt, entsprechend einem Luftdurchsatz von 5000 bis 126000 m^3. Deshalb wurden die Absterbekurven der Standorte mit annähernd gleich hohem Luftdurchsatz jeweils gegenübergestellt.

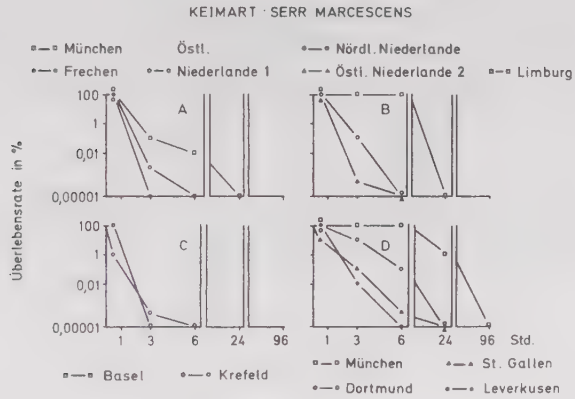

Abb. 13: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von Feinststaubfiltern verschiedener Standorte mit einem TR von 100 mg

In Abbildung 13 wurden unter A alle Standorte der Luftfilter mit ungefähr 5000, unter B mit 10.000 und unter C mit mehr als 20.000 m^3 Luftdurchsatz aufgetragen. D zeigt die Absterbekurven für das Raumluftaerosol, da auf den Filtern zweistufig filtrierte Außenluft und insbesondere die Raumluft mit ihren Verunreinigungen abgeschieden worden sind. Es zeigt sich, daß bei gleich hohem Luftdurchsatz und gleicher Substanzmenge die bakterizide Wirkung verschieden stark ist, was heißt, daß die Luftinhaltsstoffe an verschiedenen Standorten von sehr unterschiedlicher antimikrobieller Qualität sind. Für das Absterben von Serr.

marcescens sind somit unterschiedliche Stoffgruppen verantwortlich. Ferner hängt das Ausmaß der Bakterizidie nicht nur von der Konzentration wasserlöslicher Luftinhaltsstoffe ab.

Das gleiche Phänomen zeigt sich auch bei der Untersuchung von Staph. aureus, wie aus Abbildung 14 hervorgeht.

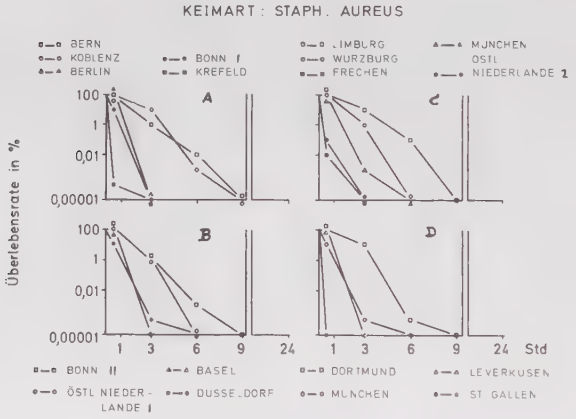

Abb. 14: Überlebensrate von Staph. aureus in Extrakten von Feinststaubfiltern verschiedener Standorte mit einem TR von 100 mg

Sofern das Aerosol aus zwei hintereinandergeschalteten Filterstufen auf seine antimikrobielle Wirkung untersucht wird, zeigt sich, wie aus Abb. 15 und 16 hervorgeht, eine zum Teil schwächere Wirkung der filtrierten Luftinhaltsstoffe.

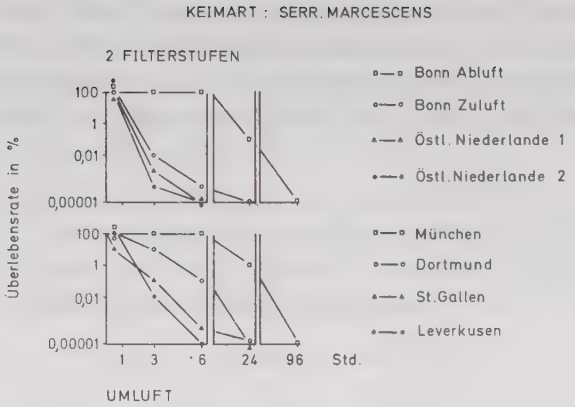

Abb. 15: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von zwei hintereinandergeschalteten Filterstufen mit einem TR von 100 mg

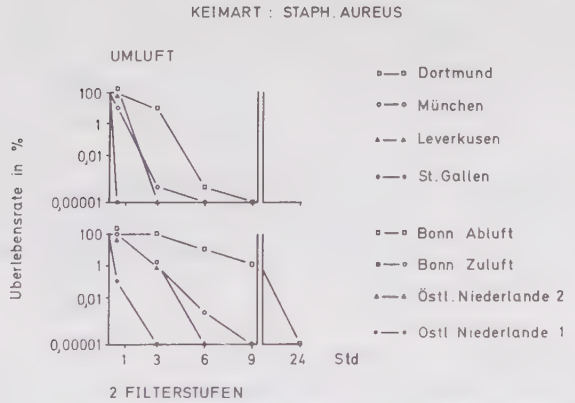

Abb. 16: Überlebensrate von Staph. aureus in Extrakten von zwei hintereinandergeschalteten Filterstufen mit einem TR von 100 mg

Auch die Ätherextrakte weisen eine unterschiedliche antibakterielle Aktivität auf, wie Abb. 17 zeigt, was besagt, daß auch die Qualität der organischen Fraktion der Luftinhaltsstoffe, soweit sie äther- und wasserlöslich ist, vom Standort, d.h. von der Art und dem Ausmaß der Immissionen abhängig ist.

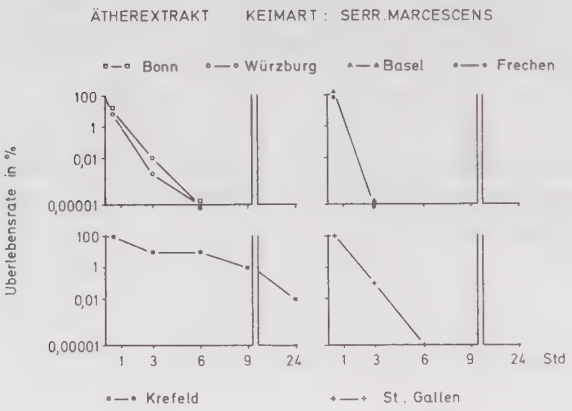

Abb. 17: Gegenüberstellung der Überlebensraten von Serr. marcescens in wässrigen Extrakten von Luftfiltern verschiedener Standorte, 5 mg ätherlösliche Stoffe enthaltend

In den Abbildungen 18 und 19 sind gleiche Absterberaten in Abhängigkeit des zugehörigen Luftdurchsatzes aufgetragen. Demnach ist ein unterschiedlicher Luftdurchsatz notwendig, um die gleiche bakterizide Wirkung zu erzielen, d.h. die antimikrobiell wirksamen Luftinhaltsstoffe sind in der Außenluft unterschiedlich stark konzentriert, bezogen auf das gleiche Luftvolumen. Das Krefelder, Bonner und Berliner Aerosol weist gegenüber dem Düsseldorfer eine doppelt so hohe Wirksamkeit gegen Staph. aureus

auf. Bei Vergleich von Krefeld, Bonn und Berlin sowie von Frechen und den östlichen Niederlanden beträgt das Verhältnis der antimikrobiellen Wirksamkeit 12 : 1.

Ähnliche Aussagen gelten auch für die übrigen Standorte, auch bei Verwendung einer weiteren Keimart,Serr. marcescens, wie aus Abbildung 19 ersichtlich ist.

Wenn sich auch für alle Standorte eine antimikrobielle Wirkung des Außenluft-, wie zum Teil auch des Raumluftaerosols ergeben hat, so sind aufgrund der vorliegenden Ergebnisse verschiedene, nicht näher identifizierte Substanzgruppen daran beteiligt.

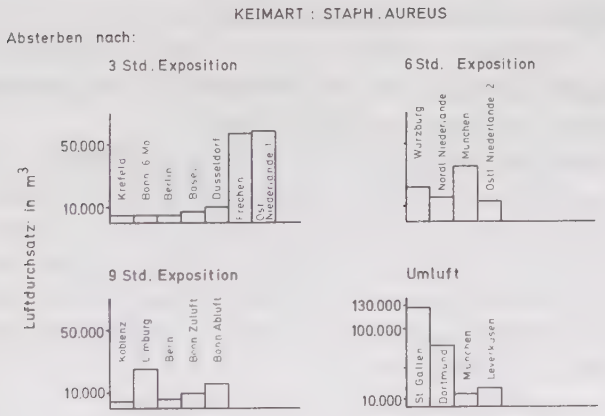

Abb. 18: Vergleich der Bakterizidie von Luftstaubextrakten in Abhängigkeit vom Luftdurchsatz

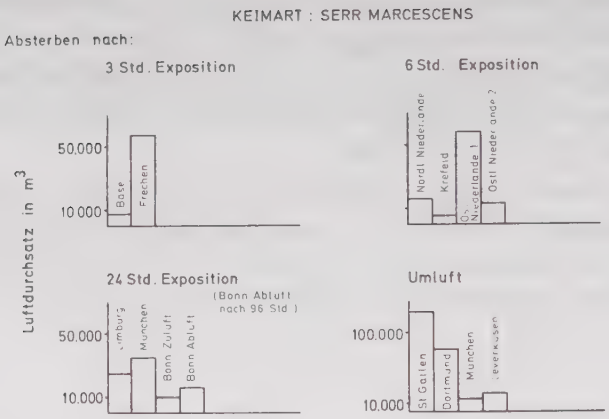

Abb. 19: Vergleich der Bakterizidie von Luftstaubextrakten in Abhängigkeit vom Luftdurchsatz

3.4. Der Anteil der mikrobiziden Wirksamkeit von Ammonium und Sulfat an der Gesamtwirkung des Luftaerosols

Aufgrund früherer Untersuchungen (45) wurde vermutet, daß Ammonium und Sulfat an der bakteriziden Wirkung der Extrakte beteiligt sind. Deshalb wurde ein wässriger Extrakt aus beaufschlagtem Filtermaterial von 6 verschiedenen Städten hergestellt und darin die Konzentration von Ammonium und Sulfat bestimmt. Wie aus Tabelle 9 hervorgeht, bestehen in Abhängigkeit vom Standort deutliche Unterschiede.

Tabelle 9: Konzentration von Ammonium und Sulfaten in wässrigen Extrakten

Standort	NH_4^+ mg/l	SO_4^{--} mg/l
Düsseldorf	216,7	846
Bonn	258,9	775
Würzburg	212	782
Berlin	266,2	990
Bern	275,6	769
Nördl. Niederlande	316,8	860

Von drei Extrakten wurden dann jeweils die Mengen in einer Verdünnungsreihe gegen Serr. marcescens eingesetzt, die einem Gehalt von 15 bzw. 7,5 mg NH_4^+ und einem Gehalt von 50 bzw. 25 mg SO_4^{--} entsprachen. Als Kontrolle dienten "synthetische" Ammoniumsulfatlösungen, bestehend aus 50 ml aqua dest. zum einen mit 55 mg und zum anderen mit 27,5 mg Ammoniumsulfat. In Tabelle 10 sind die unterschiedlichen Extraktvolumina aufgeführt, die identische Konzentrationen an Ammonium und Sulfaten enthalten.

Tabelle 10: Benötigte Extraktvolumina mit identischem Gehalt an Ammonium und Sulfaten

Standort	NH_4^+	15 mg NH_4^+ in:	7,5 mg NH_4^+ in:	SO_4^{--}	50 mg SO_4^{--} in:	25 mg SO_4^{--} in:
Würzburg	212,0 mg/l	70,75 ml	35,38 ml	782 mg/l	63,94 ml	32,00 ml
Berlin	266,2 mg/l	56,30 ml	28,15 ml	990 mg/l	50,51 ml	25,25 ml
Bonn	258,9 mg/l	58,00 ml	29,00 ml	775 mg/l	64,52 ml	32,25 ml

Wenn Ammonium und Sulfaten ein entscheidender Anteil an der bakteriziden Wirkung der Extrakte zukäme, dann müßten die Absterbekurven von Testorganismen in verschiedenen Extrakten mit identischer Ammonium- bzw.Sulfatkonzentration ungefähr gleich ver-

laufen. Dies ist aber, wie Abbildung 20 zeigt, keineswegs der Fall. Bei einem Gehalt von 15 mg Ammonium unterscheidet sich die Wirksamkeit des Berliner Extraktes deutlich von der des Bonner Extraktes. Dasselbe konnte man bei gleichen Sulfatgehalten, z.B. 25 mg, feststellen. Auch hier lag die Absterberate des Berliner Extraktes deutlich höher. Darüberhinaus zeigten die synthetischen Kontrollen mit entsprechendem Ammoniumsulfatgehalt nur eine geringe Bakterizidie. Eine erhebliche Wirkung der beiden Komponenten ließ sich somit nicht nachweisen.

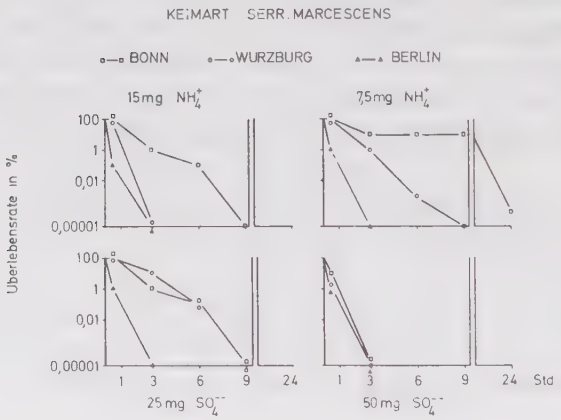

Abb. 20: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten verschiedener Feinststaubfilter mit identischen Ammonium-, bzw. Sulfatkonzentrationen

3.5. Bestimmung des Schwermetallgehaltes

Zu den wasserlöslichen Luftinhaltsstoffen zählen neben Ammonium und Sulfat die Schwermetalle. Bestimmt wurden Zink, Blei, Eisen, Mangan, Kupfer und Cadmium, wobei sich, wie aus Tabelle 11 hervorgeht, höhe Bleikonzentrationen besonders für die Standorte östl. und nördl. Niederlande, Berlin, Bern, Düsseldorf, Würzburg und Dortmund ergaben.

Tabelle 11: Inhaltsstoffe von Luftfilter-Extrakten aus verschiedenen Standorten (in %, bezogen auf 100 mg wasserlöslichen Trockenrückstand)

Standort	Zn	Pb	Fe	Mn	Cu	Cd
1) 2. Filterstufe (Feinststaubfilter) nach Vorabscheidung auf Feinstaubfiltern						
Basel	1,45	0,05	0,14	0,012	0,069	0,005
Berlin	0,74	0,43	0,21	0,055	0,23	0,012
Bern	0,86	0,79	9,39	0,032	0,041	0,005
Bonn I	0,85	0,26	0,17	0,043	0,043	0,017
Düsseldorf	1,60	0,49	0,37	0,098	0,079	0,038
Frechen	1,37	0,07	0,55	0,070	0,29	0,035
Koblenz	0,47	0,23	0,1	0,043	0,031	0,01
Krefeld	0,38	0,26	0,12	0,067	0,038	0,019
Limburg	1,22	0	0	0,077	0,019	0,038
München	-	-	-	-	-	-
Niederl. N	0,55	0,50	0,26	0,062	0,022	0,014
Würzburg	1,66	0,70	0,65	0,104	0,081	0,012
2) 2. und 3. Filterstufe (Feinststaub- und Schwebstoffilter) nach Vorabscheidung auf Feinstaubfiltern						
Östl.Niederlande I	0,66	0,32	0,09	0,062	0,030	0,027
Östl.Niederlande II	1,86	0	1,73	0,067	0,115	0,001

Standort	Zn	Pb	Fe	Mn	Cu	Cd
3) 2. Filterstufe (Feinststaubfilter) und Raumluftfilter (Feinstaubfilter)						
Bonn II	0,79	0,11	0,20	0,065	0,024	0,008
Bonn III	0,12	0	0	0,039	0,014	0,026
4) Raumluftfilter (Schwebstoffilter)						
Dortmund	4,96	0,34	0	0,520	0,1o3	1,2
St.Gallen	3,36	0	0	0	0,o62	0,036
Leverkusen	5,27	0	0,34	0	0,112	0,028
München	0,64	0,11	0	0,054	0,075	0,007

3.6. Die antimikrobielle Aktivität von Luftinhaltsstoffen vor und nach UV-Bestrahlung der Extrakte

Um die bakterizide Wirkung der organischen von der anorganischen Komponente des Luftaerosols abtrennen zu können,wurden die organischen Substanzen durch UV-Bestrahlung des Extraktes bei Zusatz von H_2O_2 inaktiviert. Wässrige Luftstaubextrakte aus Basel, Krefeld, St. Gallen, Berlin, Bonn, Würzburg und den Nördl. Niederlanden mit einem Trockenrückstand von 200 mg wurden auf 9 ml eingeengt.

Abgesehen vom Baseler Extrakt mit einem pH-Wert von 3 lagen die pH-Werte der Extrakte nach Bestrahlung zwischen 1,8 und 2. Deshalb wurden sie mit verdünnter NaOH-Lösung auf pH = 3,7 eingestellt und mit Zitratpuffer stabilisiert.

Jeweils die Hälfte dieser Lösungen, also 4,5 ml Extrakt, entsprechend einem Trockenrückstand von 100 mg, wurde unter Zusatz von 0,5 ml Zitratpuffer in einer Verdünnungsreihe eingesetzt. Als Testkeim diente Serr. marcescens. Zusätzlich wurden als Kontrolle die wässrigen Extrakte mit 100 mg TR vor UV-Bestrahlung geprüft.

Da durch die UV-Bestrahlung die organisch wirksame Komponente der Luftinhaltsstoffe mit Hilfe von H_2O_2 inaktiviert wird, liegt im Extrakt an antimikrobiell wirksamen Substanzen die anorganische Fraktion vor, überwiegend bestehend aus Ammonium,

Sulfaten und Metallen.

Bei allen Extrakten zeigt sich nach Bestrahlung ein deutlicher Wirkungsverlust (s. Abb.21), weshalb man auf einen größeren Anteil an antimikrobiell wirksamen organischen Substanzen schließen kann. Er ist nicht für alle Standorte gleich groß, da die Wirkungsdifferenz vor und nach UV-Bestrahlung in den verschiedenen Extrakten ein unterschiedlich starkes Ausmaß aufweist.

Aus Abbildung 21 ist zu ersehen, daß alle Proben im unbestrahlten Zustand eine Abtötung sämtlicher Keime nach 3 Stunden bewirken. Nach UV-Bestrahlung sind die Überlebenszeiten mit 9-24 Stunden erheblich länger.

Am Beispiel des Baseler Extraktes läßt sich aufzeigen, daß der starke Wirkungsverlust nach UV-Bestrahlung in Übereinstimmung steht mit der antimikrobiellen Wirksamkeit des Ätherextraktes (s. Abb.17). In beiden Fällen ist davon auszugehen, daß die Wirksamkeit in erster Linie auf den organischen Luftinhaltsstoffen beruht.

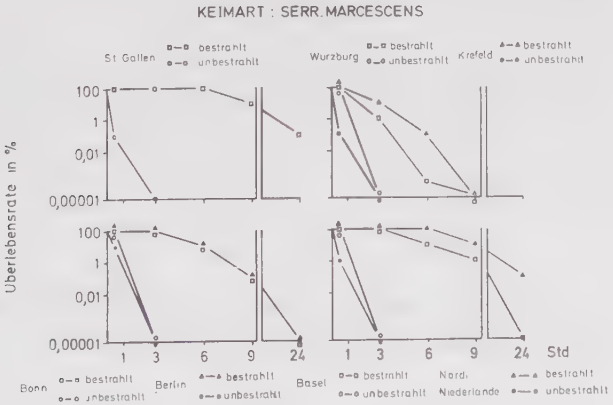

Abb. 21: Überlebensrate von Serr. marcescens in Extrakten von Feinststaubfiltern vor und nach UV-Bestrahlung

3.7. Isolierung einzelner organischer Luftinhaltsstoffe durch Infrarotspektroskopie

Von Filterextrakten aus München, St. Gallen, Krefeld, Berlin, Würzburg und Basel wurden IR-Spektren angefertigt.

Am Beispiel von Basel und Würzburg (Abb.22 und 23) ist erkennbar, daß die stärksten Absorptionen im Fingerprintbereich auftraten, was auf einen großen Anteil an sauren Substanzen hinweist. Schwache Absorptionen im Wellenlängenbereich von 1600 bis 1630 cm^{-1} lassen auf geringe Mengen von Aldehyden, Ketonen, Estern und sekundären oder tertiären Aminen schließen.

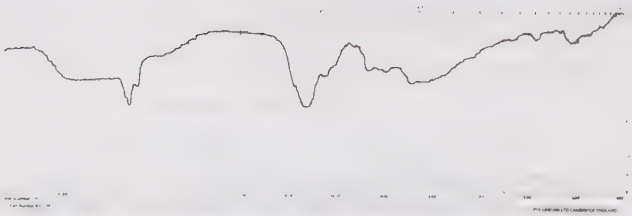

Abb. 22: Infrarotspektren der wasser- und ätherlöslichen Inhaltsstoffe des Luftfilter-Extraktes aus Würzburg

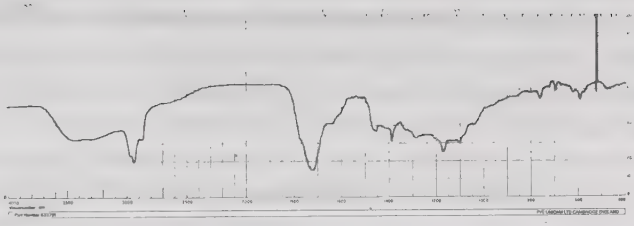

Abb. 23: Infrarotspektren der wasser- und ätherlöslichen Inhaltsstoffe des Luftfilter-Extraktes aus Basel

4. Diskussion

4.1. Open-Air-Factor

Die antimikrobielle Wirksamkeit der Außenluft wurde in England mehrfach untersucht (4, 6, 7, 11, 12, 20, 31, 32) und als Open-Air-Factor bezeichnet, worunter alle bakteriziden Luftinhaltsstoffe der Außenluft, insbesondere gasförmige, zu subsummieren sind. Es zeigte sich, daß Bakterien in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung der Luft unterschiedliche Absterberaten aufweisen (12). Hauptsächlich wurden hierfür Olefinozonide verantwortlich gemacht (7, 11, 12, 21, 22). Inwieweit andere Substanzen, etwa Nitrosegase, SO_2, Kohlenwasserstoffe oder Kohlenmonoxid für die antimikrobielle Wirksamkeit verantwortlich sind, blieb bisher ungeklärt (27, 30, 31, 33, 35). Diese Untersuchungen bezogen sich in erster Linie auf gasförmige Luftinhaltsstoffe. In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, inwieweit derartige Resultate auch auf feste und flüssige Luftinhaltsstoffe, soweit sie auf den Luftfiltern abgeschieden werden, zutreffen. Außerdem wurden die geographischen Unterschiede der mikrobiziden Wirkung der Außenluft herausgestellt.

4.2. Analyse der Luftinhaltsstoffe

Mit Wasser lassen sich aus beaufschlagten Luftstaubfiltern feste und flüssige Bestandteile der Außenluft extrahieren. In diesen Wasserextrakten sind organische und anorganische Luftinhaltsstoffe enthalten. Während keine oder nur unbedeutende Mengen bakterizider Substanzen aus dem Wasserextrakt in Hexan überführt werden können, ist der antimikrobiell wirksame Anteil der ätherlöslichen Bestandteile nicht unerheblich.

4.2.1. Anorganische Luftinhaltsstoffe

Zu den anorganischen Luftinhaltsstoffen zählen Ammonium, Sulfate und die Schwermetalle.

Ammonium und Sulfate zeigten - gemessen am Trockenrückstand - teilweise einen hohen Anteil von 60-70 % an dem gesamten Gehalt an wasserlöslichen Luftbeimischungen der Extrakte. Die bakteri-

zide Wirkung ist konzentrationsabhängig, jedoch ließ sich eine entscheidende Wirkung der beiden Komponenten nicht nachweisen.

Somit muß die bakterizide Wirkung der Wasserextrakte vornehmlich auf dem Gehalt an Schwermetallen beruhen. Welche Schwermetalle hierbei die Hauptwirkung ausmachen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

4.2.2. Organische Luftinhaltsstoffe

Die Extraktion der angesäuerten Wasserextrakte mit organischen Lösungsmitteln wie Äther belegt eine Beteiligung organischer Substanzen an der antimikrobiellen Aktivität. Der prozentuale Anteil der organischen Komponente ist - gemessen am Trockenrückstand, sowie am Ausmaß der bakteriziden Wirkung - relativ gering im Vergleich zur Wasserphase.

Ebenso wie die Extraktion mit organischen Lösungsmitteln weist der nach UV-Bestrahlung eintretende Wirkungsverlust, der zu Lasten der Inaktivierung der organischen Komponente geht, mit auf das Vorhandensein von organischen Substanzen hin. Über die Art dieser Substanzen konnte auch mit der Infrarotspektroskopie noch keine eindeutige Aussage gemacht werden. Vermutlich handelt es sich um saure Bestandteile, wie Carbonsäuren und Phenole.

4.3. Bakterizide Wirkung in Abhängigkeit von der Konzentration der Luftinhaltsstoffe

Mit steigender Konzentration der Luftinhaltsstoffe sterben die Testkeime schneller ab. Dies gilt sowohl für wasserlösliche als auch für ätherlösliche Substanzen. Dabei reagieren verschiedene Keimarten unterschiedlich stark, was auf den unterschiedlichen Zellwandaufbau der einzelnen Mikroorganismen zurückzuführen sein dürfte.

Bei stufenweiser Steigerung der Konzentration nimmt die Empfindlichkeit der einzelnen Testorganismen nicht immer im gleichen Ausmaß zu, was daraufhinweist, daß die Luftinhaltsstoffe neben einer additiven auch eine multiplikative Wirkung

besitzen.

4.4. Geographische Unterschiede der antimikrobiellen Aktivität des Luftaerosols

Bei gleich hohem Luftdurchsatz der Luftstaubfilter und gleichen Substanzmengen zeigen Luftfilterextrakte verschiedener Standorte starke Unterschiede in ihrer bakteriziden Wirksamkeit. Dies bedeutet, daß die Luftinhaltsstoffe an verschiedenen Standorten eine unterschiedliche antimikrobielle Qualität besitzen, und somit das Ausmaß der Bakterizidie nicht nur von der Konzentration wasserlöslicher Substanzen abhängt, sondern auch von der Art der Stoffgruppen.

Dieselben Ergebnisse wurden auch bei der Untersuchung der ätherlöslichen Substanzen erzielt, was besagt, daß auch die Qualität der organischen Fraktion der Luftinhaltsstoffe, soweit sie äther- und wasserlöslich ist, von der Art und dem Ausmaß der Immissionen an verschiedenen Standorten abhängig ist.

Bei Luftfilterextrakten mit identischen Substanzmengen und gleicher antimikrobieller Wirksamkeit bestehen Unterschiede in Bezug auf den zugehörigen Luftdurchsatz. Die antimikrobiell wirksamen Luftinhaltsstoffe sind also, bezogen auf das gleiche Luftvolumen, in der Außenluft unterschiedlich stark konzentriert.

Welche Substanzgruppen an der bakteriziden Wirkung der verschiedenen Standorte beteiligt sind, bleibt trotz gewisser Hinweise aufgrund infrarotspektroskopischer Ergebnisse noch offen.

4.5. Medizinisch-lufthygienische Bedeutung

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß feste und flüssige Luftinhaltsstoffe in Abhängigkeit von ihrer Konzentration und Qualität an verschiedenen Standorten in mehr oder weniger starkem Ausmaß eine Abtötung von Mikroorganismen bewirken. Mikroorganismen können dabei als geeignete Bioindikatoren für eine Umweltbelastung angesehen werden.

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, festzustellen, ob die Luftinhaltsstoffe in ihrer antimikrobiellen Wirksamkeit geographischen Einflüssen unterliegen und welche Substanzgruppen in welchem Ausmaß für eine mikrobizide Wirkung infrage kommen.

Beaufschlagte Luftstaubfilter verschiedener Standorte wurden zur Herauslösung fester und flüssiger Bestandteile mit Wasser extrahiert. Mit Hilfe von organischen Lösungsmitteln wie Äther und durch UV-Bestrahlung der Extrakte ließ sich die organische Komponente in ihrer bakteriziden Wirksamkeit isoliert betrachten. Zum Vergleich der antimikrobiellen Wirksamkeit von Luftinhaltstoffen verschiedener Standorte wurden identische Substanzmengen verschiedener Standorte in Verdünnungsreihen gegen Testkeime eingesetzt und deren Absterberaten beobachtet.

Eine entscheidende Wirkung der anorganischen Bestandteile Ammonium und Sulfat ließ sich nicht nachweisen, während eine Beteiligung der organischen Komponente an der antimikrobiellen Aktivität der Luftinhaltsstoffe belegt werden konnte. Beim Vergleich verschiedener Standorte zeigten sich deutliche geographische Unterschiede in der bakteriziden Wirksamkeit des Luftaerosols.

LITERATUR

1. ANTWEILER, H.: Maximale Immissions-Konzentration für SO_2.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, Band 7, S. 23-38, Verlag W. Girardet, Essen 1974

2. BALACESCU, C. und H. IDEL: Infektabwehr und Luftverunreinigung.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 132-139, Verlag W. Girardet, Essen 1975

3. BECK, E.G.: Partikelförmige Luftverunreinigungen.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 29-31, Verlag W. Girardet, Essen 1967/68

4. BENBOUGH, J.E. und A.M. HOOD: Viricidal Activity of Open Air.
J. Hyg. (Camb.) 69, 619-626 (1971)

5. BORNEFF, J.: Hygiene. S. 300-350, Thieme-Verlag, Stuttgart 1974

6. COX, C.S., HOOD, A.M. und J. BAXTER: Method for Comparing Concentrations of the Open-Air-Factor.
Appl. Microbiol. 26, 640-642 (1973)

7. DARK, F.A. und T. NASH: Comparative Toxicity of various Ozonized Olefins to Bacteria suspended in Air.
J. Hyg. (Camb.) 68, 245-252 (1970)

8. DAUTREBANDE, L.: Zur Biologie der Luftpartikel.
Exper. Suppl. 13, 91-99 (1967)

9. DEHNEN, W.: Blei.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 32-35, Verlag W. Girardet, Essen 1967/68

10. DREYHAUPT, F.J.: Luftreinhaltung als Faktor der Stadt- und Regionalplanung.
Verlag TÜV-Rheinland 1971

11. DRUETT, H.A.: The Open Air Factor.
In: Airborne Transmission and Airborne Infection.
(Hrsgb. J.F.Ph. Hers und K.C. Winkler)
S. 141-149, Oosthoek Publ. Comp., Utrecht 1973

12. DRUETT, H.A. und K.R. MAY: Unstable Germicidal Pollutant in rural Air.
Nature 220, 395-396 (1968)

13. FODOR, G.G. und A. ROSCOVANU: Die Bedeutung erhöhter Blut-CO-Bildung durch einige halogenierte Kohlenwasserstoffe der Methanreihe.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 87-96, Verlag W. Girardet, Essen 1975

14. FODOR, G.G. und A. ROSCOVANU: Erhöhter Blut-CO-Gehalt bei Mensch und Tier durch inkorporierte halogenierte Kohlenwasserstoffe.
In: Bericht über die 35. Tagung der deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie in Mannheim, S. 34-40, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1975

15. FRIEDRICHS, K.H.: Schwefelsäure-Aerosol und Schwefeldioxid.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 40-42, Peter-Enger-Verlag, Anrath 1967/68

16. GEORGII, H.-W.: Die Verteilung von Spurengasen in reiner Luft.
Exper. Suppl. 13, 14-20 (1967)

17. GHELERTER, L.: Störungen der Hämsynthese als Kriterium der Bleiwirkung.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 100-108, Verlag W. Girardet, Essen 1974

18. GRIESER, N.: Zink-Stoffwechsel beim Menschen und MIK-Werte.
In: Luft und Silikoseforschung, S. 58-87, Verlag W. Girardet, Essen 1975

19. HAGSPIEL, W.: Probleme der Luftverunreinigung und Luftreinhaltung in Österreich unter besonderer Berücksichtigung der Zementindustrie.
Berg- und Hüttenm. Mh., Suppl. III, 56-83 (1973)

20. HARPER, G.J.: The Influence of Urban and Rural Air on the Survival of Microorganisms Exposed on Microthreads.
In: Airborne Transmission and Airborne Infection.
(Hrsgb. J.F.Ph. Hers und K.C. Winkler), S. 151-154,
Oosthoek Publ. Comp., Utrecht 1973

21. HOOD, A.M.: Open Air Factors in Enclosed Systems.
In: Airborne Transmission and Airborne Infection.
(Hrsgb. J.F.Ph. Hers und K.C. Winkler), S. 149-151,
Oosthoek Publ. Comp., Utrecht 1973

22. HOOD, A.M.: Open Air Factors in Enclosed Systems.
J. Hyg. (Camb.) 72, 53-60 (1974)

23. ISRAEL, H. und G. ISRAEL: Spurenstoffe in der Atmosphäre.
Wissenschaftliche Verl.-Ges., Stuttgart 1973

24. JACOBI, W.: Abscheidung und Verteilung von Aerosolen im Atemtrakt.
Exper. Suppl. 13, S. 60-74 (1974)

25. JUNGE, C.: Übersicht über die wesentlichen Eigenschaften der natürlichen Aerosole.
Exper. Suppl. 13, S. 9-13 (1967)

26. KNELSON, J.H., COULSTON, F., GOLBERG, L., GRIFFIN, T. und J. BRADELY: The Role of Clinical Research in Establishing Standards for Atmospheric Lead.
In: VDI-Berichte 202, Schwermetalle als Luftverunreinigung - Blei, Zink und Cadmium, S. 29-31, VDI-Verlag, Düsseldorf 1974

27. LEE, R.E., HARRIS, K. und G. AKLAND: Relationship between Viable Bacteria and Air Pollutants in an Urban Atmosphere.
Am.Ind. Hyg. Ass. J. 36, 164-170 (1973)

28. LEHNERT, G., HOLZHAUSER,K.P., und D. SZADKOWSKI: Meßverfahren zur Bestimmung der Staubkonzentration.
In: Physikalische Umwelteinflüsse, S. 11-32, Wilhelm-Goldmann-Verlag, München 1971

29. LEITHE, W.: Die Analyse der Luft und ihrer Verunreinigungen.
Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1968

30. LIGHTHART, B.: Survival of Airborne Bacteria in a High Urban Concentration of Carbon Monoxide.
App. Microbiol. 25, 86-91 (1937)

31. MAY, K.R. und H.A. DRUETT: A Microthread Technique for Studying the Viability of Microbes in a Simulated Airborne State.
J. gen. Microbiol. 51, 353-366 (1968)

32. MAY, K.R., DRUETT, H.A.,und L.P. PACKMANN: Toxicity of Open Air to a Variety of Microorganisms.
Nature 221, 1146-1147 (1969)

33. DE MIK, G. und I. DE GROOT: The Survival of Escherichia coli in the Open Air in Different Parts of the Netherlands.
In: Airborne Transmission and Airborne Infection.
(Hrsgb. J.F.Ph. Hers und K.C. Winkler), S. 155-158,
Oosthoek,Publ. Comp., Utrecht 1973

34. MÖSE, J.R.: Luftverunreinigung - aus medizinischer Sicht.
Berg- und Hüttenm. Mh., Suppl. III, 15-34 (1973)

35. NASH, T.: Detection of Presumed OAF. Using Nucleus Counter.
In: Airborne Transmission and Airborne Infection.
(Hrsgb. J.F.Ph. Hers und K.C. Winkler), S. 158-162
Oosthoek Publ. Comp., Utrecht 1973

36. PASIĆ, H. und F. CERKEZ: The Effect of Air Pollution on Mortality in Sarajevo.
In: Proceedings of the Third International Clean Air Congress, A 51-52, VDI-Verlag,Düsseldorf 1973

37. PISCATOR, M.: Auswirkungen von Cadmium auf die Gesundheit der Bevölkerung.
In: VDI-Berichte 202, Schwermetalle als Luftverunreinigung - Blei, Zink und Cadmium, S. 49-51, VDI-Verlag, Düsseldorf 1974

38. POTT,F.: Kanzerogene Kohlenwasserstoffe.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 36-39, Peter-Enger-Verlag, Anrath 1967/68

39. POTT,F. und H.-W. SCHLIPKÖTER: Die Bleibelastung des Menschen.
In: Lufthygiene und Silikoseforschung, S. 31-58, Verlag W. Girardet, Essen 1975

40. RÜDEN, H. und E. THOFERN: Abscheidung von Schadstoffen und Mikroorganismen in Luftfiltern.
Staub-Reinhalt. Luft 36, 33-36 (1976)

41. RÜDEN, H. und E. THOFERN: Über die Wirkung von Luftinhaltsstoffen auf verschiedene Mikroorganismen.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 162, 106-113 (1976)

42. SCHLIPKÖTER, H.-W., FODOR, G.G., GHELERTER, L. und R. DOLGNER: Tierexperimentelle Befunde zur Kombinationswirkung .
In: Proceedings of the Third International Clean Air Congress, A 26-30, VDI-Verlag, Düsseldorf 1973

43. SCHLIPKÖTER, H.-W., und J. BRUCH: Die Lunge als Aufnahme- und Reaktionsorgan bei Inhalation von Luftverunreinigungen.
In: Bericht über die 35. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, S. 1-17, Gustav-Fischer-Verlag, Mannheim 1975

44. SCHLIPKÖTER, H.-W.: Die gesundheitliche Bedeutung von Blei.
In: VDI-Berichte 202, Schwermetalle als Luftverunreinigung - Blei, Zink und Cadmium, S. 24-29, VDI-Verlag, Düsseldorf 1974

45. SCHMIDT, P., SCHLIPKÖTER, H.-W., PELECH, L. und R. DOLGNER: Der Gesundheitszustand von Schulkindern in luftverunreinigten Gebieten.
In Proceedings of the Third International Clean Air Congress, A 59-62 VDI-Verlag, Düsseldorf 1973

46. SEEMAYER, N., MANOJLOVIC, N. und A. BROCKHAUS: Die Wirkung von Feinstaubextrakten auf Zellen in Vitro unter besonderer Berücksichtigung krebserzeugender Komponenten.

47. SPENGLER, G.: Die Schwefeloxide in Rauchgasen und in der Atmosphäre.
VDI-Verlag, Düsseldorf 1965

48. TEWORTE, W.: Blei, Zink, Cadmium-Gewinnung, Einsatz und Emissionen.
In: VDI-Berichte 202, Schwermetalle als Luftverunreinigung - Blei, Zink und Cadmium, S. 5-14, VDI-Verlag, Düsseldorf 1974

49. USSAR, M.: Die Umweltprobleme der Industrie.
Berg- und Hüttenm. Mh., Suppl. III, 3-14 (1973)

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Rüden für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes im Hygiene-Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. E. Thofern). Außerdem danke ich Herrn Dr.-Ing. U. Mihm sowie den Technischen Assistentinnen Frau K. Scharfenberg und Frau C. Leberl für ihre Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen.

Lebenslauf

Ich, Kristin Bertram geb. Borchert, wurde am 31.12.1952 in Koblenz als Tochter des Oberforstmeisters Ludwig-Ferdinand Borchert und seiner Ehefrau Thea geb. Franck geboren.

Von 1959 bis 1963 besuchte ich die ev. Volksschule und dann das Staatliche Martinus-Gymnasium in Linz am Rhein, wo ich im Frühjahr 1971 das Reifezeugnis erhielt.

Von 1971 bis 1978 studierte ich Humanmedizin an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn. Am 20.4.1978 bestand ich den 3. Teil der ärztlichen Prüfung.

Seit dem 1.6.1978 bin ich am Kreiskrankenhaus Diepholz als Assistenzärztin in der Internen Abteilung tätig.